Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON W. RUHLAND UND H. WINKLER

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, A. ERNST-ZÜRICH, H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, W. SCHUMACHER-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

55. BAND, 5. HEFT
MIT 53 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 2. NOVEMBER 1960)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1960

Planta (Berl.)

Preis DM 24.60

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40. — für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2791

55. Band **Inhaltsverzeichnis** 5. Heft

Seite

SCHWARZE, P., Über den Einfluß der Verdunklung auf die Plasmafraktionen isolierter Blätter 461

HAUPT, W., Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. II. Mitteilung. Die Induktion der Schwachlichtbewegung durch linear polarisiertes Licht. Mit 12 Textabbildungen 465

LOTT, H. V., Über den Einfluß der kurzwelligen Strahlung auf die Biosynthese der pflanzlichen Polyphenole. Mit 3 Textabbildungen 480

ENGELMANN, W., Endogene Rhythmik und photoperiodische Blühinduktion bei *Kalanchoe*. Mit 10 Textabbildungen 496

KESSLER, E., und W. BÜCKER, Über die Wirkung von Arsenat auf Nitratreduktion, Atmung und Photosynthese von Grünalgen. Mit 8 Textabbildungen 512

FALK, H., Magnoglobuli in Chloroplasten von *Ficus elastica* ROXB. Mit 6 Textabbildungen 525

FRANKE, W., Über die Beziehungen der Ektodesmen zur Stoffaufnahme durch Blätter. II. Mitteilung. Beobachtungen an *Helxine soleirolii* REQ. Mit 7 Textabbildungen 533

PENNER, J., Über den Einfluß von Gibberellin auf die photoperiodisch bedingten Blühvorgänge bei *Bryophyllum*. Mit 7 Textabbildungen 542

Planta 55, 461—464 (1960)

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Erwin-Baur-Institut, Köln-Vogelsang

ÜBER DEN EINFLUSS DER VERDUNKLUNG AUF DIE PLASMAFRAKTIONEN ISOLIERTER BLÄTTER

Von

PAUL SCHWARZE

(Eingegangen am 3. August 1960)

Werden abgeschnittene grüne Blätter verdunkelt, so geht, wie man seit langem weiß (Literatur bei McKEE 1958), der Eiweißgehalt zurück, und das Verhältnis Eiweiß-N/lösl. N wird zugunsten des letzteren verschoben. Weitere Verdunklungseffekte sind eine Abnahme des Chlorophyllgehaltes und ein Anstieg der Peroxydasereaktion (SCHUHMACHER 1928, SCHWARZE 1954). Um einen Einblick in das letztgenannte Phänomen zu gewinnen, insbesondere um festzustellen, welcher Plasmafraktion die im Dunkeln gebildete Peroxydase angehört, wurde das Plasma verdunkelter und im Vergleich dazu das unverdunkelter Blätter durch Differentialzentrifugierung fraktioniert. Über die Ergebnisse der Fraktionierung und die Bestimmung von Nucleinsäure und Eiweiß in den Fraktionen wird in der vorliegenden Arbeit berichtet. Die Befunde über die Verteilung der Peroxydase auf die Fraktionen bleiben einer späteren Veröffentlichung vorbehalten.

Material und Methodik

Versuchsobjekte waren *Phaseolus coccineus*, Sorte „Weiße Riesen", und Bastarde der Kreuzung *Phaseolus vulgaris* × *Phaseolus coccineus*. Für die Untersuchungen wurden ausgewachsene Blätter gleichen Alters ausgewählt und von diesen nur die symmetrisch gebauten unpaaren Blättchen für die Analyse benutzt. Sie wurden unter Verwerfung der Mittelrippe halbiert, um vergleichbares Material für Kontrolle und Versuch zu erhalten. Erstere wurde sofort, letzterer nach mehrtägiger Aufbewahrung der Blätter in einer feuchten Kammer im Dunklen aufgearbeitet. Die Verdunklung wurde bei 30° durchgeführt und solange ausgedehnt, bis die Blätter eine gelbgrüne Färbung zeigten.

Der Fraktionierungsvorgang sowie die Methoden der Nucleinsäure- und Eiweißbestimmung sind in der vorausgehenden Mitteilung (SCHWARZE 1960) beschrieben. In der vorliegenden Untersuchung wurden „Kerne und Chloroplasten", „Mitochondrien und Microsomen" sowie „hoch- und niedrigmolekulares Grundplasma" zu jeweils einer Fraktion zusammengefaßt. Es werden also die Fraktionen I, (II + III) und (IV + V) unterschieden.

Ergebnisse

In den ersten beiden Versuchen (Tabelle 1) wurde nur der Eiweißgehalt der Fraktionen bestimmt. Beide Male nimmt während der Verdunklung in allen Fraktionen der Eiweißgehalt ab, in den Fraktionen I

Tabelle 1. *Einfluß der Verdunklung auf den Eiweißgehalt der Plasmafraktionen von Phaseolus-Blättern*

Versuchsobjekte: Normaler Bastard der Kreuzung *Phaseolus vulgaris* × *Phaseolus coccineus* (Versuch 1) u. *Phaseolus vulgaris* (Versuch 2). I = „Kerne + Chloroplasten", II + III = „Mitochondrien + Mikrosomen", I bis III = gesamtes partikuläres Protoplasma, IV + V = gesamtes Grundplasma, I bis V = gesamtes Protoplasma.

Fraktion Nr.	Versuch 1 (18. 4. 59) %-Eiweiß/ Frischsubstanz		Versuch 2 (22. 4. 59) %-Eiweiß/ Frischsubstanz	
	Kontrolle	Versuch	Kontrolle	Versuch
I	1,019	0,604	0,837	0,556
II+III	0,447	0,382	0,225	0,200
I bis III	1,466	0,986	1,062	0,756
IV+V	1,661	1,058	1,865	0,907
I bis V	3,127	2,044	2,927	1,663

und (IV + V) absolut und relativ sehr stark, in der Fraktion (II + III) nur geringfügig. Der starke Eiweißverlust der Fraktion I dürfte die Folge des bekannten Chloroplastenschwundes während der Verdunklung sein, und die markante Abnahme des Eiweißgehaltes in der Fraktion

Tabelle 2. *Einfluß der Verdunklung auf den Nucleinsäure- und Eiweißgehalt der Plasmafraktionen von Phaseolus-Blättern*

Versuchsobjekt: *Phaseolus coccineus*, Sorte „Weiße Riesen". Bezeichnung der Fraktionen wie in Tabelle 1. Versuch vom 21. 5. 59.

Fraktion Nr.	%-Nucleinsäure/ Frischsubstanz		%-Eiweiß/ Frischsubstanz	
	Kontrolle	Versuch	Kontrolle	Versuch
I	0,0305	0,0250	0,760	0,445
II+III	0,0362	0,0101	0,404	0,227
I bis III	0,0667	0,0351	1,164	0,672
IV+V	0,0470	0,0576	0,898	0,662
I bis V	0,1137	0,0927	2,062	1,334

(IV + V) wird in erster Linie auf der Eiweißverminderung im niedrigmolekularen Grundplasma beruhen, da der Eiweißanteil der hochmolekularen Fraktion des Grundplasmas erfahrungsgemäß wesentlich kleiner als der bei der Verdunklung eintretende Eiweißverlust ist.

In zwei weiteren Versuchen wurde außer dem Eiweiß auch die Nucleinsäure bestimmt. Wie der Eiweißgehalt nimmt im Versuch vom 19. 5. 59 in allen Fraktionen auch der Nucleinsäuregehalt ab. Bis auf Fraktion (IV + V) ist dies auch im Versuch vom 21. 5. 59 (Tabelle 2) der Fall. Da unter den Bedingungen des extremen Kohlenhydrathungers eine

Nucleinsäureneubildung unwahrscheinlich ist, dürfte es sich hier um eine Ansammlung freigesetzter und vielleicht partiell abgebauter Partikelnucleinsäure im niedrigmolekularen Teil des Grundplasmas handeln. Nach den bisher durchgeführten Versuchen ist es wahrscheinlich, daß vom Eiweiß- und Nucleinsäureschwund beide Komponenten der Fraktion (II + III), also „Mitochondrien" und „Mikrosomen" und auch beide Fraktionen des Grundplasmas, die „hochmolekulare" und die „niedrigmolekulare", betroffen sind.

Besprechung der Ergebnisse

Die Befunde lassen folgende Deutung zu: Solange die Zelle am Leben ist, müssen die zahlreichen Stoffwechselvorgänge koordiniert sein. Gerät die Zelle unter Bedingungen, die, wie Kohlenhydrathunger, abbauende Vorgänge begünstigen, wird der Abbau so durchgeführt, daß das Gleichgewicht zwischen den in Konkurrenzbeziehungen stehenden Plasmakomponenten erhalten bleibt oder sich neu einstellen kann. Da Eiweißabbau im wesentlichen Enzymabbau oder wenigstens Apoenzymabbau bedeutet, lassen die Befunde den Schluß zu, daß die enzymatischen Potenzen der Plasmakomponenten im Dunklen so reduziert werden, daß die verbleibenden Enzyme weiterhin ein koordiniertes Reaktionssystem bilden. Vom Enzymabbau sind offenbar nicht alle Enzyme im gleichen Maß betroffen. So fanden Axelrod und Jagendorf (1951), daß in der Fraktion des „löslichen Cytoplasmas" von Tabakblättern, die während 7tägiger Verdunklung um 45% zurückging, das Verhältnis der Enzyme Phosphatase, Invertase und Peroxydase nach der Verdunklung ein anderes war als vorher. Wenn schließlich die Koordination gestört ist, die Plasmakonstituenten nicht mehr im Gleichgewicht stehen, wirken die Enzyme unkontrolliert und führen durch Autolyse den Tod der Zelle herbei.

In den Strudel des Abbaues, der den Stoffwechsel des isolierten verdunkelten Blattes kennzeichnet, wird neben dem Eiweiß und zahlreichen anderen Zellbestandteilen auch die Nucleinsäure hineingerissen. Einen genaueren Einblick in dieses Phänomen lassen die Befunde dieser Untersuchung nicht zu.

Die Abnahme des Eiweiß- und Nucleinsäuregehaltes in den Fraktionen I bis IV kann auf einer Reduktion der Partikelzahl beruhen, sie kann aber auch durch eine Substanzverminderung, durch eine „Abmagerung" der Partikeln oder beides zustande kommen. Untersuchungen zur Klärung dieser Frage sind vorgesehen.

Zusammenfassung

Der Eiweiß- und Nucleinsäureabbau, der sich im isolierten verdunkelten Blatt vollzieht, erfaßt Eiweiß und Nucleinsäure von Plasmapartikeln

und Grundplasma. Es ist wahrscheinlich, daß alle partikulären Fraktionen und beide Fraktionen des Grundplasmas von diesem Abbau betroffen sind.

Literatur

Axelrod, B., and A. T. Jagendorf: The fate of phosphatase, invertase and peroxydase in autolyzing leaves. Plant Physiol. **26**, 406—410 (1951).

McKee, H. S.: Nitrogen metabolism in leaves. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 8, S. 516—553. Herausgeb. W. Ruhland. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

Schuhmacher, W.: Ein Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels panaschierter Pflanzen. Planta (Berl.) **5**, 161—231 (1928).

Schwarze, P.: Beziehungen zwischen Peroxydasereaktion, Eiweiß-Spiegel und Chlorophyllbildung. Planta (Berl.) **44**, 491—502 (1954).

Schwarze, P.: Über die Fraktionierung des Protoplasmas von *Phaseolus*-Arten und *Phaseolus*-Artbastarden. Planta (Berl.) **55**, 451—460 (1960).

Dr. P. Schwarze,
Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut),
Köln-Vogelsang

Planta 55, 465—479 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

DIE CHLOROPLASTENDREHUNG BEI *MOUGEOTIA*

II. Mitteilung

DIE INDUKTION DER SCHWACHLICHTBEWEGUNG DURCH LINEAR POLARISIERTES LICHT*

Von

WOLFGANG HAUPT

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. Juli 1960)

Einleitung

Nachdem bei einer Anzahl von lichtphysiologischen Vorgängen eine Abhängigkeit von der Schwingungsrichtung polarisierten Lichtes zutage getreten war (vgl. CASTLE 1934, JAFFE 1958, 1960, BÜNNING und ETZOLD 1959, SHROPSHIRE 1959), wobei es sich jedoch stets um ausgesprochene Blaulichtwirkungen handelte, erschien es reizvoll, nach einem entsprechenden Effekt auch bei der lichtinduzierten Chloroplastenbewegung von *Mougeotia* zu suchen und damit die Experimente mit polarisiertem Licht auch auf Rotlichtwirkungen auszudehnen. In orientierenden Versuchen zeigte sich tatsächlich eine ausgesprochene Abhängigkeit der Schwachlichtbewegung (Kante → Fläche) von der Richtung der Schwingungsebene des induzierenden Rotlichts (HAUPT, KÖHLER und MÜLLER 1960), und eine weitere Analyse erforderte nun eine quantitative Bearbeitung des Problems. Hieraus konnte eine Vertiefung unserer noch recht geringen Kenntnisse über den Induktionsvorgang erhofft werden. Zur wichtigen Frage, ob die induzierende Strahlung im Cytoplasma oder im Chloroplasten absorbiert wird, kann jedoch die vorliegende Untersuchung auch noch keine *endgültige* Klärung bringen.

Material und Methoden

Zur Untersuchung diente der schon früher verwendete Stamm von *Mougeotia* spec. (HAUPT 1959), der seit Herbst 1957 in Kultur gehalten wird. Die Anfertigung und Vorbereitung der Präparate, die Methode der Bestrahlung und die Auswertung waren in der Mehrzahl der Versuche ebenso wie früher beschrieben; als Reaktionsgröße wurde wieder der Prozentsatz der Zellen verwendet, in denen der Chloroplast reagiert, also sich aus der Kanten- in die Flächenstellung gedreht hat. Da ein solcher Meßwert stets als Mittelwert aus mehreren *Mougeotia*-Fäden gewonnen wurde, werden diese Versuche im folgenden als „statistische Versuche" bezeichnet. Im Gegensatz dazu stehen Versuche mit „Einzelfäden", die für bestimmte

* Herrn Prof. Dr. J. BUDER zum 75. Geburtstag gewidmet. Infolge unvorhergesehener Verzögerungen kann die Arbeit erst jetzt im Druck erscheinen.

Fragestellungen notwendig wurden; hier sollte es nämlich möglich sein, die Zellen eines Fadens aus verschiedenen Richtungen mit exakt kontrollierbaren Energien oder Lichtmengen zu bestrahlen. Dazu war es notwendig, eine besondere Methode zu entwickeln, die im folgenden beschrieben werden soll.

Glascapillaren von etwa 40 mm Länge und 0,25 mm Stärke (lichte Weite etwa 0,15 mm) wurden mit Paraffin in eine passende Pipette eingekittet, die mit einem längeren Gummischlauch versehen war. Unter dem Binokular wurde ein passender *Mougeotia*-Faden ausgesucht und mit dem Mund in die Capillare eingesaugt. Infolge geringfügiger Krümmungen des Fadens lag dieser in der Capillare fest, sobald nicht mehr gesaugt wurde. Die Capillare wurde nun zwischen zwei Paraffinwürfel montiert, die auf einer Seite mittels Ruß geschwärzt waren (Abb. 1), und auf einen entsprechend vorbereiteten Objektträger in Wasser unter ein Deckglas gelegt. Auf diese Weise konnte die Capillare um je 90° beliebig gedreht werden, wobei die berußte Seite jederzeit die augenblickliche Orientierung erkennen ließ. Das Wasser, in das die Capillare eingebettet war, verhinderte eine zu starke Lichtbrechung an der Oberfläche der Capillare. Die weitere Behandlung dieser Individual-Präparate entsprach vollständig derjenigen der normalen in den statistischen Versuchen. Da in jede Capillare nur ein Faden eingesaugt werden konnte und durfte, lieferte ein solches Präparat im allgemeinen Prozentwerte aus der Auszählung von nur 50—100 Zellen.

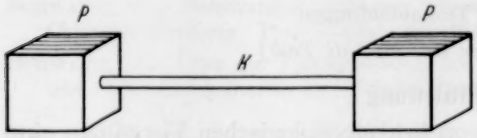

Abb. 1. Schematische Darstellung der Versuchsanordnung für die Individualpräparate. *K* Capillare, in der sich der Algenfaden befindet; *P* Paraffinblöckchen, in die die Capillare eingekittet ist

Die früher beschriebene Niedervoltlampe fand nur bei den orientierenden Versuchen Verwendung; bei den Hauptversuchen erfolgte die induzierende Bestrahlung mit einer Xenon XBO 500, natürlich auch hier wieder unter Verwendung von Interferenzfiltern. Nachdem das Wirkungsspektrum feststand, konnte im maximal wirksamen Bereich die verfügbare Intensität unbedenklich durch Verwendung eines Interferenz-Bandfilters erheblich erhöht werden gegenüber den mit Linienfiltern durchgeführten Versuchen. „Dunkelrot"-Strahlung (700—750 mμ) wurde am wirksamsten erhalten, indem in den Strahlengang der Niedervoltlampe lediglich ein RG 9 (2 mm) eingeschaltet wurde, das alle Strahlung >700 mμ durchläßt; auch diese Steigerung der Wirksamkeit war unbedenklich, nachdem in früheren Versuchen der Wirkungsbereich abgegrenzt und die grundsätzliche Gleichartigkeit der Wirkung schmaler und breiter Spektralbereiche nachgewiesen worden war. Energieangaben haben in diesem Falle natürlich keinen Sinn. Als Polarisator diente die UV-Polarisationsfolie der Firma Käsemann (Oberaudorf/Inn).

Experimenteller Teil

1. Vorversuche

Wird ein Objektträger-Präparat, in dem die *Mougeotia*-Fäden in beliebiger Orientierung liegen, senkrecht von oben mit linear polarisiertem Hellrot (HR, 665 mμ) bestrahlt, so reagieren die Chloroplasten überwiegend in den Fadenabschnitten, die mehr oder weniger senkrecht zur Schwingungsebene liegen (elektrischer Vektor). Dies wurde bereits berichtet (HAUPT, KÖHLER und MÜLLER). Das gleiche gilt auch für Bestrahlung mit polarisiertem UV (300—400 mμ), vgl. Abb. 2.

2. *Die Wirkungskurve polarisierten Hellrots*

Eine bevorzugte Wirkung einer bestimmten Schwingungsrichtung kann verschiedene Ursachen haben. Sehen wir ab von der Möglichkeit, daß die Zellwand oder die äußerste plasmatische Schicht als Analysator wirkt, also polarisiertes Licht nur in bestimmter Schwingungsrichtung durchläßt — ein Effekt, der sich bei bloßem Betrachten der Zellen in polarisiertem Licht unmittelbar zu erkennen geben müßte —, so bleiben grundsätzlich zwei Möglichkeiten zur Erklärung: Die Photoreceptormoleküle (bzw. deren Übergangsmoment, MENKE und MENKE 1955) könnten so orientiert sein, daß eine dichroitische Struktur

Abb. 2

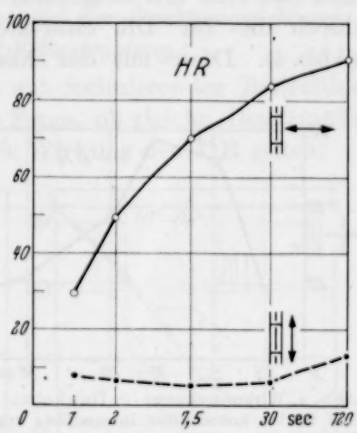

Abb. 3.

Abb. 2. Schematische Darstellung eines *Mougeotia*-Präparates nach Einstrahlung von linear polarisiertem UV (300—400 mμ) von oben. Der Pfeil bezeichnet die Schwingungsebene des Lichtes, die Ziffern geben an, wieviel Zellen reagiert haben (dicke Striche, Chloroplast in Fläche) bzw. ohne Reaktion geblieben sind (dünne Striche, Kantenstellung)

Abb. 3. Wirkungskurve für linear polarisiertes Hellrot (665 mμ, 200 erg/cm²/sec). Die Ordinate gibt Reaktionsprozente an in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit (Abszisse). Schwingungsebene senkrecht zur Längsachse der Zelle (obere Kurve) bzw. parallel dazu (untere Kurve)

entsteht und Absorption nur (oder bevorzugt) in einer Schwingungsrichtung möglich ist (vgl. JAFFE 1958, 1960), oder nach den Fresnelschen Gesetzen wird die parallel zum Faden schwingende Strahlung stärker reflektiert (und steht damit in geringerem Ausmaß für die Absorption zur Verfügung) als die senkrecht zum Faden schwingende Strahlung (vgl. z. B. CASTLE). Unter günstigen Umständen kann eine quantitative Wirkungskurve zwischen diesen Alternativen entscheiden. Daher wurden verschiedene *Mougeotia*-Präparate mit polarisiertem HR mit steigenden Energien bestrahlt und nur die möglichst genau parallel und senkrecht zur Schwingungsebene liegenden Fäden in jedem Präparat ausgewertet. Die daraus resultierenden Wirkungskurven zeigt Abb. 3, das Ergebnis entspricht völlig dem bereits früher mitgeteilten. Die Frage, ob bei den höchsten verwendeten Energien ein echter Anstieg auch im parallel schwingenden Licht zu verzeichnen ist und ob dieser

real ist oder nur auf einer möglichen Unvollkommenheit der Polarisationsfilter beruht, wurde in Anbetracht der weiter unten zu besprechenden Versuche (S. 473f.) nicht mehr verfolgt.

Die Versuche wurden auch auf den Bereich des Dunkelrot (DR) ausgedehnt. Hier ist gegenüber der früheren Mitteilung (HAUPT 1959) noch nachzutragen, daß DR-Bestrahlung mit relativ geringen Energien ebenso wie HR zu einer Induktion der Chloroplastendrehung führt und daß erst mit steigenden Energien diese Induktion abgelöst wird durch die für DR charakteristische induktionslöschende Wirkung (Abb. 4). Diese mit der Niedervoltlampe + Interferenzfilter 717 mμ

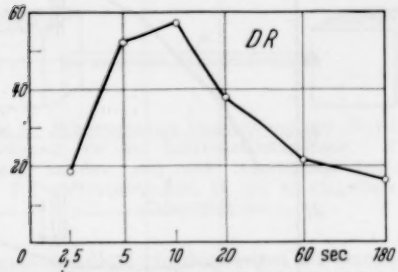

Abb. 4. Wirkungskurve für Dunkelrot (> 700 mμ; RG 9) bei konstanter Intensität, unpolarisiert. Ordinate: Reaktionsprozente in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit (Abszisse)

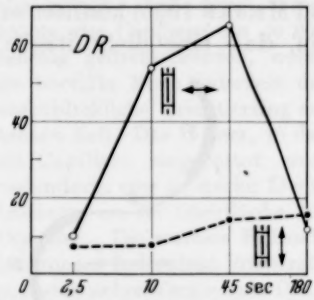

Abb. 5. Wirkungskurve für linear polarisiertes Dunkelrot (> 700 mμ; RG 9) bei konstanter Intensität. Abszisse und Ordinate wie in Abb. 3

oder Schott-Filter RG 9 (2 mm) gewonnenen Kurven konnten grundsätzlich bestätigt werden mit der Monochromator-Anlage von MOHR und SCHOSER (Interferenzfilter 717 mμ), so daß ein methodischer Fehler wohl kaum diese Doppelwirkung des DR vortäuschen dürfte.

Nebenbei interessierte hier die Frage, ob dieser induzierende DR-Effekt wirklich mit einer normalen HR-Induktion verglichen werden kann. In diesem Falle müßte das Reizmengengesetz gelten (vgl. HAUPT 1959, S. 489) und der Reaktionsverlauf müßte der gleiche sein. Tatsächlich ergab ein Versuch, daß bei 4mal höherer Intensität der Gipfel der Wirkungskurve schon bei einer 4mal kürzeren Bestrahlungsdauer erreicht wird. Auch der Reaktionsverlauf zeigt keine Besonderheiten: Wird der jeweils erreichte Drehungszustand in Abständen von 10 min kontrolliert, so ist die endgültige Reaktionsgröße nach etwa 30—40 min erkennbar, gleichgültig, wie hoch dieser Reaktionswert ist, ganz entsprechend den Verhältnissen bei der HR-Induktion (vgl. HAUPT 1959, S. 488).

Versuche mit polarisiertem DR ergaben für die *induzierende* Wirkung dieser Strahlung ganz entsprechende Resultate, wie für die Induktion im HR: Nur das quer zum Faden schwingende Licht ist wirksam (Abb. 5). Über die induktions*löschende* Wirkung des DR bei höheren Energien ist mit diesen Versuchen natürlich noch nichts ausgesagt; hierzu muß die DR-Bestrahlung nach der induzierenden HR-Bestrahlung erfolgen. Versuche dieser Art sind weiter unten (S. 469) beschrieben.

Aus den in diesem Abschnitt besprochenen Versuchen geht übereinstimmend hervor, daß das *senkrecht zum Faden schwingende* Licht wenigstens 100mal so wirksam ist wie das *parallel zum Faden schwingende*; auf der Basis Fresnelscher Reflexionsverluste wäre jedoch nur ein Wirkungsverhältnis von maximal 1,5:1 erklärbar. Wir müssen also auf Grund unserer Versuche mit einer anisotropen Lagerung der Photoreceptoren rechnen.

3. Der Einfluß der Schwingungsebene und der Strahlungsrichtung induktionslöschender DR-Bestrahlung

Nach den eindeutigen Ergebnissen mit induzierender Bestrahlung war nun von besonderem Interesse die Frage, ob gleiche Gesetzmäßigkeiten auch für die induktionslöschende Wirkung des DR gelten.

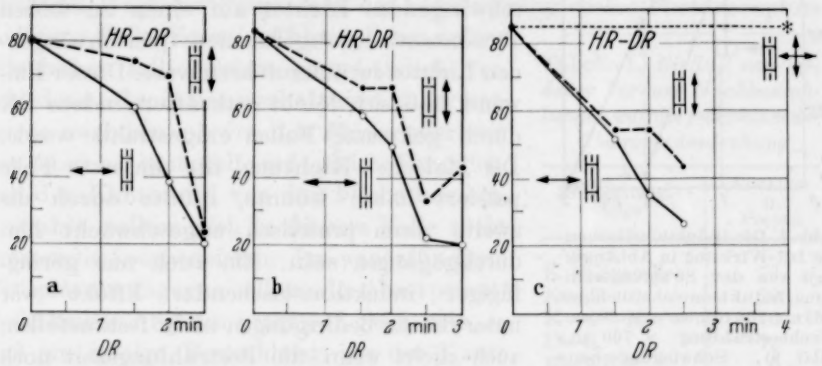

Abb. 6. Die induktionslöschende DR-Wirkung in Abhängigkeit von der Richtung der Schwingungsebene. Induktion einheitlich mit 665 mμ, 200 erg/cm²/sec · 60 sec; Nachbestrahlung > 700 mμ (RG 9), Schwingungsebene senkrecht (o——o Kurve) bzw. parallel (●– – –● Kurve) zur Längsachse der Zelle. In c ist außerdem eine Nachbestrahlung mit gekreuzten Polarisatoren enthalten (*). Ordinate: Reaktionsprozente in Abhängigkeit von der Dauer der DR-Nachbestrahlung (Abszisse). Mittelwerte aus je 3—6 Versuchen

In statistischen Versuchen wurden Fäden zunächst mit polarisiertem HR möglichst hoch induziert und anschließend mit DR nachbestrahlt, das entweder in der gleichen Richtung oder senkrecht dazu polarisiert war. Ausgezählt wurden nur die Fäden, die senkrecht zur Schwingungsebene des induzierenden HR lagen. Wie stets bei Versuchen mit HR-DR war die Streuung in den mittleren Bereichen sehr groß (vgl. Haupt, S. 496), so daß die Versuche recht häufig wiederholt werden mußten. Mehrere kurz hintereinander durchgeführte Versuche wurden zu gemeinsamen Mittelwerten zusammengefaßt und aus diesen die Kurven der Abb. 6a—c dargestellt. Trotz dieser Mittelwertbildung aus zahlreichen Versuchen macht sich immer noch eine relativ große Streuung bemerkbar, doch stimmen die Kurven in den wesentlichen Punkten überein: Stets ist die Induktionslöschung stärker, wenn das polarisierte DR

senkrecht zum Faden *schwingt*, doch ist auch im *parallel schwingenden* Licht die Wirkung beträchtlich. Verglichen mit den Verhältnissen bei der *Induktion*, sind die Unterschiede zwischen beiden Schwingungsrichtungen als unbedeutend zu bezeichnen. Wenn wir berücksichtigen, daß ein Teil dieses Unterschiedes noch auf Fresnelsche Reflexionsverluste gehen dürfte, kann die Anisotropie der Photoreceptoren für die induktionslöschende DR-Absorption nur noch ganz unwesentlich sein.

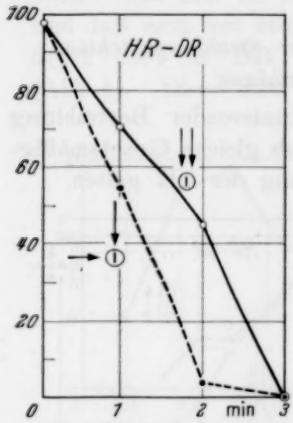

Abb. 7. Die induktionslöschende DR-Wirkung in Abhängigkeit von der Strahlungsrichtung. Induktion einheitlich mit 665 mμ, 200 erg/cm²/sec · 60 sec; Nachbestrahlung > 700 mμ (RG 9), Schwingungsebene senkrecht zur Längsachse der Zelle, Bestrahlung der Kante (ausgezogene Kurve) bzw. der Fläche (gestrichelte Kurve). Ordinate: Reaktionsprozente in Abhängigkeit von der Dauer der DR-Nachbestrahlung (Abszisse)

Bei diesen Versuchen konnte der Verdacht auftauchen, daß die oberhalb 700 mμ bald nachlassende Polarisatorwirkung der Folien die Ergebnisse verfälscht haben könnte, indem hier die vermeintliche Wirkung des längsschwingenden Lichtes auf einen zu hohen Prozentsatz durchgelassenen querschwingenden Lichtes zurückzuführen wäre. Dieser Einwand ließ sich leicht entkräften, indem DR durch gekreuzte Folien eingestrahlt wurde. Die „falsche" Richtung, die die erste Folie passiert haben könnte, müßte durch die zweite dann praktisch ungeschwächt hindurchgegangen sein. Ein auch nur geringfügiger induktionslöschender Effekt war unter diesen Bedingungen nicht festzustellen, auch nicht wenn die Bestrahlungszeit noch weiter verlängert wurde (vgl. Abb. 6c).

Mit Einzelfäden konnte nun weiter noch die Frage geprüft werden, ob das induktionslöschende DR aus der gleichen Richtung eingestrahlt werden muß wie das induzierende HR (also auf die Kante des Chloroplasten), oder ob eine entsprechende Wirkung auch eintritt, wenn die DR-Nachbestrahlung im rechten Winkel zur Induktion, also auf die Fläche erfolgt.

Einzelne Fäden wurden in Capillaren mit HR induziert und anschließend aus verschiedenen *Richtungen* bei steigenden Belichtungszeiten mit DR nachbestrahlt. Um möglichst exakte Verhältnisse zu bekommen, wurden beide Bestrahlungen (HR und DR) mit *quer zum Faden schwingendem* Licht durchgeführt. Ein Ergebnis solcher Versuche ist in Abb. 7 dargestellt. Zwar liegen nur wenige Versuchsergebnisse vor, doch stimmen sie alle darin überein, daß eine DR-Bestrahlung von der Fläche her die Induktion jedenfalls nicht schlechter löscht als von der Kante her. Im Gegenteil scheint sogar im ersten Fall die Wirkung noch stärker zu sein, doch wurde diese Frage vorerst

nicht quantitativ weiter verfolgt. Es ergeben sich also auch hieraus keine Anhaltspunkte für eine ausgeprägte Ordnung in der Lagerung der Photoreceptoren, soweit es sich um die DR-absorbierende Form des Pigmentes handelt. Dieses Ergebnis soll jedoch hier ausdrücklich als vorläufig bezeichnet werden; die komplexe Natur der DR-Wirkung läßt eine zweifelsfreie Deutung dieser DR-Versuche noch nicht zu (s. S. 468). Gründe, die gegen eine ungeordnete Lagerung der DR-Photoreceptoren sprechen, werden weiter unten noch erörtert. (s. S. 477).

4. Die antagonistische Wirkung von Hellrot, das von der Fläche her eingestrahlt wird (Kante-Fläche-Antagonismus)

Nachdem eine bestimmte Orientierung der HR-Photoreceptoren festgestellt war, konnte der Versuch unternommen werden, auf indirektem Wege die Frage nach der Lokalisierung dieses Photoreceptors zu lösen. Falls dieser im Chloroplasten seinen Sitz haben sollte, wären grundsätzlich verschiedene Absorptionsverhältnisse zu erwarten je nachdem ob von der *Fläche* oder von der *Kante* her bestrahlt wird; gleiche Energien, von der Kante und von der Fläche her eingestrahlt, sollten sich in diesem Falle nicht notwendig kompensieren. Im wandständigen Cytoplasma dagegen sollten die Absorptionsverhältnisse ringsum praktisch gleich sein, so daß ein infolge Bestrahlung von der Kante her erzeugter Gradient wieder aufgehoben werden müßte, wenn mit gleicher Energie von der Fläche her bestrahlt wird (vgl. Abbildung 12, S. 476).

Tabelle 1. *Einfluß verschiedener Vor- und Nachbestrahlungen auf die Induktion der Chloroplastendrehung*

Bestrahlungsfolge	Reaktion in Prozent
K (Kontrolle)	72
K—F	20
K—F—K	76
F—K	72
F—K—F	0

Alle Bestrahlungen Hellrot (665 mμ), 200 erg/cm² sec · 60 sec, Schwingungsebene quer zum Faden orientiert, Pause zwischen zwei Bestrahlungen etwa 30 sec.

K = Bestrahlung auf die Kante des Chloroplasten (Induktion); F = Bestrahlung auf die Fläche.

Da mit der gegenwärtigen Versuchsanordnung eine *gleichzeitige* definierte Bestrahlung aus zwei Richtungen noch nicht möglich ist, wurden die Bestrahlungen *hintereinander* vorgenommen. Dabei ergab sich zunächst das folgende überraschende Bild: Wird mit gleichen HR-Energien zuerst von der *Fläche* und dann von der *Kante* her bestrahlt, so findet Induktion der Chloroplastenbewegung statt als ob nur von der Kante her bestrahlt worden wäre. Erfolgt dagegen die Bestrahlung zuerst von der Kante und dann von der Fläche, so wird die Induktion völlig ausgelöscht. Entsprechendes gilt für den Fall mehrfacher Wiederholung: Für den Effekt ist stets die letzte Bestrahlungsrichtung ausschlaggebend (vgl. Tabelle 1). Beide Bestrahlungen wurden bisher stets mit *quer zum Faden* orientierter

Schwingungsebene des Lichtes durchgeführt. Eine Induktion der Chloroplastenbewegung läßt sich jedoch auch löschen, wenn die Schwingungsebene der nachfolgenden Bestrahlung von der Fläche her *parallel zum Faden* orientiert ist (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Einfluß von Nachbestrahlungen mit verschieden orientierter Schwingungsebene auf die Induktion der Chloroplastendrehung*

Bestrahlungsfolge	Orientierung der Nachbestrahlung (F)	Reaktion in Prozent
K (Kontrolle)	—	70
K—F	quer	22
K—F	längs	31

Alle Bestrahlungen Hellrot (665 mμ), 2000 erg/cm² sec · 7,5 sec, Pause zwischen den Bestrahlungen etwa 15 sec.

K = Bestrahlung auf die Kante des Chloroplasten (Induktion), Schwingungsebene quer zum Faden orientiert; F = Nachbestrahlung auf die Fläche, Schwingungsebene quer oder längs.

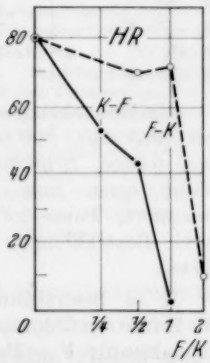

Abb. 8. Die induktionslöschende Wirkung einer HR-Bestrahlung auf die Fläche. Induktion einheitlich mit 665 mμ, 200 erg/cm²/sec · 15 sec (Bestrahlung der Kante), Bestrahlung auf die Fläche nach oder vor der Induktion (●——● bzw. ○— — —○ Kurve) mit gleicher Intensität, aber unterschiedlicher Dauer, die in Bruchteilen bzw. Vielfachen der Induktionsdauer angegeben ist (Abszisse). Ordinate: Reaktionsprozente. Alle Bestrahlungen mit quer orientierter Schwingungsebene

Die Versuche wurden nun quantitativ erweitert mit den beiden Fragestellungen: Wie stark kann die nachfolgende Bestrahlung von der Fläche her reduziert werden, um gerade noch einen antagonistischen Effekt erkennen zu lassen? Kann Bestrahlung von der Fläche *vor* der Induktion auch antagonistisch wirken, wenn sie genügend stark erhöht wird?

Zu diesem Zwecke wurde die Induktion (Kantenbestrahlung) nach Intensität und Zeit konstant gehalten, während die nachfolgende oder vorhergehende Flächenbestrahlung (bei gleicher Intensität) nach der Bestrahlungszeit variiert wurde. Die Induktionszeit ist in den Abbildungen stets gleich 1 gesetzt, die Flächenbestrahlung also in Bruchteilen oder Vielfachen der Induktion angegeben. Die Schwingungsebene des polarisierten Lichtes lag quer zum Faden, die Pause zwischen beiden Bestrahlungen betrug 15—30 sec.

Obwohl es sich hier um Versuche mit Einzelfäden handelte, waren die Ergebnisse mit nachfolgender Flächenbestrahlung recht einheitlich, eine weitgehende Löschung der Induktion trat meist noch bei einer Flächenbestrahlung von $^1/_2$ der Induktion ein, während bei $^1/_8$ die Löschung nur noch recht gering war (Abb. 8). Bei der Flächenbestrahlung *vor* der Induktion dagegen waren die Ergebnisse weniger übereinstimmend. Hier ist mindestens die zweifache Bestrahlung notwendig, um noch einen antagonistischen Effekt hervorzurufen.

Durch Interpolation beider Kurven — Vorbestrahlung und Nachbestrahlung — wurde versucht, ein vorläufiges Urteil darüber zu erhalten, was bei gleichzeitiger Bestrahlung von beiden Seiten zu erwarten wäre. Im Falle des Bestrahlungsverhältnisses 1:1 dürfte die Induktion etwa auf die Hälfte herabgedrückt werden, die Chloroplastenstellungen sind dann also ± statistisch verteilt; wir können das so auffassen, als ob in diesem Falle wirklich gerade eine Kompensation beider Bestrahlungen gegeneinander erfolgt wäre. Der endgültige Beweis hierfür müßte allerdings noch mit anderer Methode erbracht werden.

5. Die antagonistische Wirkung von Hellrot mit längsorientierter Schwingungsebene, das von der Kante her eingestrahlt wird (Quer-Längs-Antagonismus)

Die Beobachtung, daß *längsschwingendes* Licht, von der *Fläche* her eingestrahlt, die Induktion löschen kann, schien darauf hinzudeuten, daß entgegen den anfänglichen Überlegungen doch auch eine HR-Absorption in der Schwingungsrichtung parallel zum Faden möglich ist. Daraus ergab sich die Frage, ob auch von der Kante her eingestrahltes, längsschwingendes HR irgendeinen zusätzlichen Effekt auf eine Induktion ausüben kann.

In statistischen Versuchen wurden Präparate zunächst einheitlich mit *querschwingendem* HR induziert und anschließend mit *längsschwingendem* HR nachbestrahlt, das in verschiedenen Vielfachen der Induktionsenergie angewendet wurde — entsprechend den Versuchen beim Kante-Fläche-Antagonismus (s. voriger Abschnitt). Alle Bestrahlungen erfolgten von der *Kante* her, die Pause zwischen beiden Bestrahlungen betrug 5—15 sec.

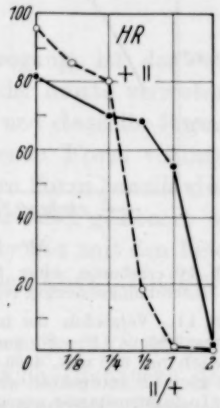

Abb. 9. Die induktionslöschende Wirkung einer HR-Bestrahlung auf die Kante mit falsch orientierter Schwingungsebene (parallel zum Faden). Induktion einheitlich mit 665 mμ, 2000 erg / cm² / sec · 60 sec (o——o Kurve) bzw. 200 erg/cm²/sec · 60 sec (●——● Kurve, Grenzenergie gem. Abb. 10), quer zum Faden schwingend (+). Nachbestrahlung (parallelschwingend, ||) mit gleicher Intensität, aber unterschiedlicher Dauer, die in Bruchteilen bzw. Vielfachen der Induktionsdauer angegeben ist (Abszisse). Ordinate: Reaktionsprozente

Nach diesen Versuchen ist längsschwingendes HR tatsächlich nicht indifferent, sondern kann eine Induktion löschen, auch wenn beide Bestrahlungen von der Kante her erfolgen. Über das Ausmaß dieses antagonistischen Effektes gibt die Abb. 9 einen Begriff. Die quantitativen Unterschiede der beiden Kurven repräsentieren zugleich zwei Bestrahlungsprogramme, die sich in der Energie für die Induktionsbestrahlung und damit auch für die Nachbestrahlungen unterscheiden: Bei der rechten Kurve (bei der der antagonistische Effekt weniger stark ausgeprägt ist) wurde die Induktionsenergie (Energie = 1) so gewählt, daß gerade der Sättigungsbereich der Dosis-Effekt-Kurve erreicht

war („Grenzenergie"[1], vgl. Abb. 10), während für die linke Kurve die Induktion etwa der 10fachen Grenzenergie entsprach; hier ist also die antagonistische Wirkung der Nachbestrahlung größer. Die gleichen Kurventypen traten auf, gleichgültig ob die Grenzenergie bzw. die 10fache Grenzenergie durch höhere Intensitäten und kurze Bestrahlungszeiten (7,5 sec) oder durch niedere Intensitäten und längere Bestrahlungszeiten (60 sec) erreicht wurden.

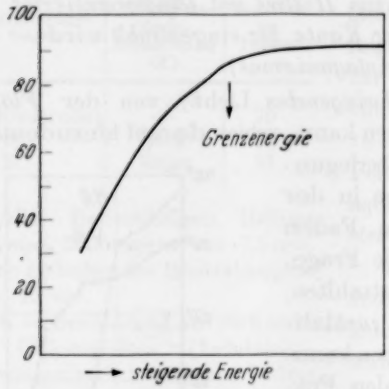

Abb. 10

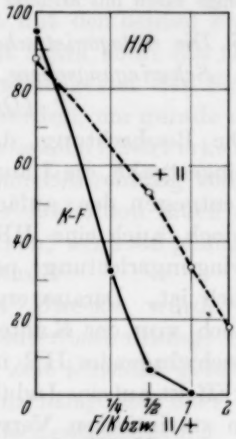

Abb. 11

Abb. 10. Schema einer Wirkungskurve: Abhängigkeit der Reaktionsstärke von der Bestrahlungsenergie (vgl. z. B. Abb. 3), Definition des Begriffes „Grenzenergie"

Abb. 11. Vergleich der induktionslöschenden HR-Wirkungen nach dem Kante-Fläche-Antagonismus (*K*—*F*) und nach dem Quer-Längs-Antagonismus (+ ||). Induktion einheitlich mit 665 mμ, 4000 erg/cm²/sec · 7,5 sec (Kante, querschwingend), Nachbestrahlung mit gleicher Intensität, aber unterschiedlicher Dauer, die in Bruchteilen bzw. Vielfachen der Induktionsdauer angegeben ist (Abszisse) entweder auf die Fläche, querschwingend (*F*), oder auf die Kante, längs schwingend (||). Ordinate: Reaktionsprozente

Entsprechend wie beim Kante-Fläche-Antagonismus wurde auch hier beim Quer-Längs-Antagonismus versucht, die Induktion durch *Vorbestrahlung* mit der „falschen" HR-Strahlung (längsschwingend) zu löschen. In solchen Versuchen konnte jedoch höchstens eine gewisse Reduktion der Induktion erreicht werden, selbst wenn die längsschwingende Vorbestrahlung 4—8mal so lang dauerte wie die Induktion mit querschwingendem HR.

6. *Quantitativer Vergleich des Kante-Fläche-Antagonismus und des Quer-Längs-Antagonismus*

Um zu einer Erklärung der beobachteten Erscheinungen zu kommen, erschien es angebracht, einen quantitativen Vergleich der beiden HR-Antagonismen vorzunehmen.

Die Versuche wurden wie in den Abschnitten 4 und 5 beschrieben durchgeführt, nun aber die Nachbestrahlung von der Fläche (Einzelfäden) und die Nachbestrahlung mit längsorientierter Schwingungsebene von der Kante (statistische Versuche) in ein und demselben Versuch

[1] Kriterium für die Grenzenergie: Induktion mit $^1/_4$ der verwendeten Energie führt höchstens zu einem Reaktionswert von 50%.

und damit unter exakt vergleichbaren Bedingungen vorgenommen. Ein Beispiel für einen derartigen Versuch gibt Abb. 11. Die Induktion erfolgte hier etwa mit Grenzenergie, die Induktionslöschung nach dem Kante-Fläche-Antagonismus ist etwa viermal so groß wie die nach dem Quer-Längs-Antagonismus. Im Falle der Induktion mit der mehrfachen Grenzenergie verringert sich dieser Unterschied etwas, da für den Kante-Fläche-Antagonismus keine wesentliche Abhängigkeit von der verwendeten Induktionsenergie beobachtet wurde. Zum gleichen Ergebnis führten Versuche, in denen auch der Quer-Längs-Antagonismus vergleichsweise an Einzelpräparaten untersucht wurde, doch sind diese Versuche wegen der an der Capillare zu erwartenden Fresnelschen Reflexionen (längsschwingendes Licht!) weniger exakt als die in Abb. 11 dargestellten.

Diskussion

Der Photoreceptor für die Schwachlichtbewegung ist das weitverbreitete „Hellrot-Dunkelrot-Pigment". Nach der heute vertretenen und wohl recht gut begründeten Ansicht kann ein und dasselbe Pigment („Phytochrom") als HR- oder als DR-absorbierende Form vorliegen, wobei die Umwandlung von der einen in die andere Form jeweils durch Absorption der entsprechenden Strahlung ausgelöst und gesteuert wird (vgl. Mohr 1959). Wir haben also auch bei *Mougeotia* mit den beiden Formen dieses Pigments zu rechnen (im folgenden kurz „HR-Form" und „DR-Form" des Photoreceptors).

Für die HR-Form mußte aus den ersten Versuchen (S. 467) eine praktisch ausschließliche Orientierung der Moleküle (genauer: deren Übergangsmomente) quer zum Faden geschlossen werden. Diese Auffassung bedarf einer Revision. Die zuletzt besprochenen Versuche zeigten doch, daß auch längsschwingendes HR absorbiert werden kann, und zwar etwa in der gleichen Größenordnung wie querschwingendes. Wenngleich es sich dabei um den gegenteiligen Effekt handelt, nämlich Löschung der Induktion, so ist doch grundsätzlich die Absorption in dieser Schwingungsrichtung möglich, und es bleibt nur zu klären, warum querschwingendes HR die Bewegung induziert, längsschwingendes dagegen die Induktion wieder vernichtet.

Sehen wir einmal von der recht unwahrscheinlichen Denkmöglichkeit ab, daß das längsschwingende Licht von einem Pigment absorbiert wird, das nicht identisch mit dem HR-DR-Pigment ist und das zufällig auch im HR absorbieren kann, so bietet sich folgende Deutung als *Arbeitshypothese* an: Der Photoreceptor ist im Cytoplasma lokalisiert. Dabei ist die HR-Form (mit der wir uns zunächst ausschließlich befassen) mit ihren Übergangsmomenten quer und längs zur Zelle orientiert, aber nur oberflächenparallel, nicht senkrecht zur Oberfläche (also nicht radiär orientiert). Einseitig eingestrahltes, querschwingendes HR kann bei dieser Anordnung nur auf der lichtzugewandten und auf der licht-

abgewandten Seite absorbiert werden, nicht aber an den Flanken (Abb. 12a), es resultiert ein Gradientensystem ungleicher Absorption im Plasma, das das Wesen der Induktion (bzw. deren ersten Schrittes) ausmachen könnte. Längsschwingendes HR dagegen, gleichgültig von wo es eingestrahlt wird, muß immer (von gewissen quantitativen Unterschieden abgesehen) ringsum absorbiert werden, kann also niemals ausgeprägte Gradienten erzeugen (Abb. 12b). Darüber hinaus aber muß auch längsschwingendes HR ein bereits bestehendes Gradientensystem

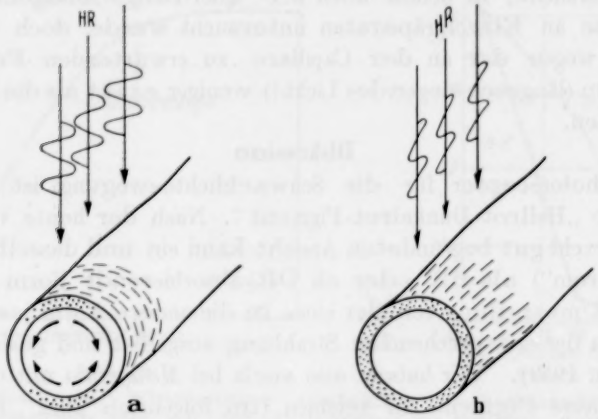

Abb. 12. Schematische Darstellung der angenommenen Absorptionsverhältnisse in einer *Mougeotia*-Zelle. Der Chloroplast wurde der Übersichtlichkeit halber weggelassen, der plasmatische Wandbelag übertrieben dick gezeichnet. Die Striche an der Oberfläche stellen die Photoreceptoren dar, die Pfeile darüber bezeichnen die Strahlungsrichtung sowie die Orientierung der Schwingungsebene des Rotlichts. Die Stärke der Absorption ist durch die Punkte im Querschnitt des Plasmas angegeben, dabei entstehende Absorptionsgradienten durch Pfeile innerhalb der Plasmaschicht. a Schwingungsebene quer zum Faden, nur die quer orientierten Photoreceptoren gezeichnet. b Schwingungsebene längs zum Faden, nur die längsorientierten Photoreceptoren gezeichnet

(durch querschwingendes HR erzeugt) in seiner Wirkung abschwächen, da dieses nun noch überlagert wird durch ± gleichmäßige Absorption ringsum; die *absolute Differenz* der Absorptionen (vorn und hinten verglichen mit den Flanken) wird dadurch zwar nicht verändert, wohl aber das *Verhältnis* dieser Absorptionen, und auf dieses kommt es ja bei der wirksamen Erzeugung eines Gradienten an. Damit wäre aber auch zugleich zu fordern, daß die antagonistische Wirkung der längsschwingenden Strahlung (Überlagerung des Gradienten) mehr Energie benötigt als diejenige querschwingender Strahlung von der Fläche her (Kompensation des Gradienten). Diese Forderung ist erfüllt, wie die Versuche (S. 474) zeigen.

Die Auffassung, die HR-Photoreceptoren seien „längs und quer orientiert", darf natürlich nicht so verstanden werden, als ob diese beiden Richtungen bevorzugt sein müßten; vielmehr können die Photoreceptoren oberflächenparallel in beliebigen Richtungen statistisch verteilt orientiert sein, da sich jede Richtung vektoriell in eine Längs- und

eine Querkomponente zerlegen läßt, die für die entsprechende Absorption verantwortlich ist. Denkbar wäre auch, daß *jedes* Pigmentmolekül in allen oberflächenparallelen Richtungen HR absorbieren kann. Diese Möglichkeit würde das Verständnis der DR-Versuche etwas erleichtern (s. unten).

Die hier entwickelte Hypothese führt zu gewissen Folgerungen, die einer experimentellen Prüfung zugänglich sind. Entsprechende Versuche, die die Hypothese bestätigen oder widerlegen sollen, sind bereits in Angriff genommen worden.

Ein wesentlicher Bestandteil der Hypothese ist weiterhin die Lokalisierung des HR-DR-Pigmentes im Cytoplasma, also nicht in den Chloroplasten. Für diese Grundvoraussetzung der Hypothese sprechen verschiedene an anderen Objekten gefundene Tatsachen (vgl. GORDON und SURREY 1960, BUTLER et al. 1959), aber eine Allgemeingültigkeit ist damit noch nicht nachgewiesen, und so kann auch für den Photoreceptor bei *Mougeotia* die Lokalisierung im Cytoplasma bis jetzt nur als „ziemlich wahrscheinlich" angesehen werden.

Im Gegensatz zur HR-Form konnte für die DR-Form irgendein Hinweis für bevorzugte Orientierung noch nicht gefunden werden. Wir dürfen aber deshalb aus unseren Versuchen noch nicht schließen, daß nun eine solche Ordnung wirklich fehlt. Aus rein physikalischen Gründen erscheint es nämlich recht unwahrscheinlich, daß eine so geringfügige Änderung des Molekülbaues, wie sie bei der Umwandlung aus der HR- in die DR-Form angenommen wird, die Symmetrieverhältnisse grundlegend verändern sollte. Unter diesen Gesichtspunkten steht die Unabhängigkeit der DR-Wirkung von der *Schwingungsrichtung* im Einklang mit den HR-Befunden; denn bei der Induktionslöschung durch DR kommt es ja nur auf die Absorption überhaupt an, nicht jedoch auf unterschiedliche Absorption in verschiedenen Plasmabereichen wie bei der Induktion durch HR. Wesentlich ist allerdings, daß nicht irgendein Pigmentmolekül die DR-Absorption vollzieht, sondern gerade das Molekül, das vorher HR absorbiert hatte; deshalb wäre gedanklich ein Photoreceptormolekül zu bevorzugen, das (im HR und im DR) in allen oberflächenparallelen Richtungen absorbieren kann (s. oben; sofern man nicht eine freie Drehbarkeit der Moleküle um eine radiale Achse annehmen will). Nicht erklärbar wäre mit diesem Modell dagegen die *Richtungsunabhängigkeit* der DR-Wirkung. Hierbei ist jedoch zu bedenken, daß DR in gewissem Ausmaße auch induzierend wirken, also HR-Wirkung besitzen kann. Eine DR-Nachbestrahlung von der Fläche her könnte damit grundsätzlich auch — gewissermaßen als HR wirkend — nach dem Kante-Fläche-Antagonismus die Induktion löschen. In Anbetracht der gleichen Größenordnung aller löschenden DR-Wirkungen (Kante quer-, Kante längs-, Fläche querschwingend) ist dies allerdings von vornherein etwas unwahrscheinlich; endgültig wird sich diese Frage aber wohl erst entscheiden lassen, wenn die Bedeutung des Zeitfaktors bei den verschiedenen Antagonismen miteinander verglichen wird, d. h. die Bedeutung der Pause zwischen induzierender und löschender Bestrahlung.

Der zuletzt erwähnte Zeitfaktor muß auch noch aus einem anderen Grunde untersucht werden: Sowohl beim Kante-Fläche-Antagonismus als auch beim Quer-Längs-Antagonismus ist es ja von wesentlicher Bedeutung, ob die „falsche" (also die löschende) HR-Bestrahlung vor oder nach der induzierenden Bestrahlung geboten wird. Ein Deutungsversuch dieser Unterschiede würde zu sehr den Charakter reiner Spekulation tragen und soll daher zurückgestellt werden, bis entsprechende weitere Versuche vorliegen.

Schon früher war betont worden, daß zu verschiedenen Zeiten durchgeführte Versuche nicht immer absolut miteinander vergleichbar sind, da die Empfindlichkeit noch ungeklärten Schwankungen unterworfen ist (HAUPT 1959, S. 490). Ein Überblick über die in der vorliegenden Arbeit angegebenen Energiewerte liefert für diese Empfindlichkeitsschwankungen eindrucksvolle Beispiele. So war in Abb. 8 die Grenzenergie (vgl. S. 474) bereits bei einer HR-Bestrahlung von 200 erg/cm² sec · 15 sec = 3000 erg/cm² erreicht; in Abb. 9 wurde für die gleiche Reaktion 200 erg/cm² sec · 60 sec = 12000 erg/cm² benötigt, und in Abb. 11 betrug die Grenzenergie sogar 4000 erg/cm² sec · 7,5 sec = 30000 erg/cm². Die Empfindlichkeiten schwankten also in diesen ausgewählten Versuchen wie 10:1. Die Versuche lagen zeitlich weit auseinander (Versuchsdaten: 10. Februar, 24. März, 10. Mai 1960; eine Jahresperiodik kann aus diesen wenigen Werten allerdings noch nicht abgeleitet werden).

Summary

1. The low-intensity movement ("positive phototaxis") of the *Mougeotia* chloroplast, reversibly induced by the red far-red reaction system, has been investigated using polarized light. A method for irradiating single *Mougeotia* filaments from different directions with definite energies has been developed.

2. Red light induces this movement most effectively when vibrating perpendicularly to the cell axis, and less effectively when vibrating parallel to it, in the latter position requiring at least 100 times the energy as in the former one in order to get the same effect (if at all). Qualitatively the same holds true for near ultraviolet and also for a certain inducing effect of far-red, which has been found in lower energies of this irradiation.

3. The antagonizing effect of far-red depends much less on the vibration plane of this light, the effects being in the same order of magnitude in both orientations. Moreover, far-red seems to antagonize the induction both when directed normal to the plane of the chloroplast and when directed normal to the edge. The interpretation of these results however is still uncertain because we assume that the photoreceptors very likely are oriented also in the far-red absorbing state.

4. Red light directed normal to the plane of the chloroplast antagonizes the induction which is achieved by red light directed normal to the edge, independent of whether the former vibrates parallel or perpendicularly to the cell axis. This antagonizing irradiation is more effective when given after the induction rather than before it.

5. Red light also antagonizes an induction when coming from the right direction, i.e. irradiating the edge of the chloroplast, but vibrating parallel to the axis instead of perpendicularly. This effect is pronounced only when the „wrong" red irradiation follows the "right" one rather than when it precedes it.

6. The antagonism under 5. ist less effective than that under 4., i.e. it requires more energy to give the same antagonizing effect.

7. A preliminary working hypothesis has been discussed, which tries to explain all facts known until now in *Mougeotia*.

Die Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft großzügig unterstützt, wofür ich an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aussprechen möchte. Die Kultur der Versuchspflanzen lag wieder in der bewährten Hand von Herrn Dieter Müller, bei der Durchführung und Auswertung der Versuche war mir Herr Günther Köhler ein unentbehrlicher Helfer. Den Genannten gilt meine dankbare Anerkennung.

Literatur

Bünning, E., u. H. Etzold: Über die Wirkung von polarisiertem Licht auf keimende Sporen von Pilzen, Moosen und Farnen. Ber. dtsch. bot. Ges. **71**, 304—306 (1958).

Butler, W. L., K. H. Norris, H. W. Siegelman and S. B. Hendricks: Detection, assay, and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plants. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **45**, 1703—1708 (1959).

Castle, E. S.: The phototropic effect of polarized light. J. gen. Physiol. **17**, 751—762 (1934).

Gordon, S. A., and K. Surrey: Red and far-red action on oxidative phosphorylation. Radiat. Res. **12**, 325—339 (1960).

Haupt, W.: Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. I. Über den quantitativen und qualitativen Lichtbedarf der Schwachlichtbewegung. Planta (Berl.) **53**, 484—501 (1959).

Haupt, W., G. Köhler u. D. Müller: Chloroplastenbewegung in polarisiertem Licht. Naturwissenschaften **47**, 113 (1960).

Jaffe, L. F.: Tropistic responses of zygotes of the *Fucaceae* to polarized light. Exp. Cell Res. **15**, 282—299 (1958).

Jaffe, L. F.: The dependence of growth in *Phycomyces* on the polarization of incident light. Proc. IX. Internat. Bot. Congr. Montreal, vol. II, p. 179, 1959.

Jaffe, L. F.: The effect of polarized light on the growth of a transparent cell. A theoretical analysis. J. gen. Physiol. **43**, 897—911 (1960).

Menke, W., u. G. Menke: Dispersion der Chloroplasten-Doppelbrechung und Dichroismus. Z. Naturforsch. **10**b, 416—419 (1955).

Mohr, H.: Photomorphogenetische Reaktionssysteme in Pflanzen. 1. Teil. Ergebnisse der Biologie, Bd. XXII, S. 67—107. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.

Mohr, H., u. G. Schoser: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) **53**, 1—17 (1959).

Shropshire jr., W.: Growth responses of *Phycomyces* to polarized light stimuli. Science **130**, 336 (1959).

Dozent Dr. W. Haupt,
Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstr. 5

Planta 55, 480—495 (1960)

Aus dem Institut für Allgemeine Botanik der E. T. H. Zürich

ÜBER DEN EINFLUSS DER KURZWELLIGEN STRAHLUNG AUF DIE BIOSYNTHESE DER PFLANZLICHEN POLYPHENOLE

Von

H. V. Lott

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. Juli 1960)

1. Einleitung und Problemstellung

Durch die dominierende Rolle des Photosyntheseprozesses im Leben der Pflanze ist der gesamte Stoffwechsel letztlich lichtabhängig. Im besonderen spielt sodann das Licht in Formgebung und Blütenbildung sowie bei gewissen Atmungsvorgängen (Matile 1960) eine dominierende Rolle. Dann ist beispielsweise von Blatteiweißen bekannt, daß deren Anreicherung durch blaues Licht stimuliert wird (Voskrenska und Grishina 1959). Ruge (1959) fand, daß der Vitamin B_1-Gehalt in *Tradescantia*-Blättern ebenfalls von der Lichtwellenlänge abhängig ist. Schon früh gelangten die Physiologen zur Erkenntnis, daß auch der Stoffwechsel der sekundären Pflanzenstoffe teilweise in Beziehung zum Licht steht. Von den Polyphenolen, die zu dieser Gruppe gerechnet werden (Frey-Wyssling 1949, Urban 1958), mögen — da besonders gut untersucht — nur die Anthocyane erwähnt werden (Sammelreferat bei Blank 1958).

Es zeigt sich immer wieder, daß sich auch das ultraviolette Licht (UV) im pflanzlichen Stoffwechselgeschehen geltend macht.

So klärte unter anderem Braun (1939) den Einfluß langwelliger UV-Strahlen auf die Inhaltsstoffe einiger Arzneipflanzen ab, während Canzanelli, Gossen und Rapport (1955) besondere Effekte dieser Strahlung auf die Bernsteinsäuredehydrogenase und die Cytochromoxydase von tierischem Gewebe beobachteten. Daß dieses energiereiche kurzwellige Licht auch die Atmung beeinflußt, zeigte Gessner (1938) an submersen Süßwasserphanerogamen. Zu ähnlichen Resultaten gelangte Owen (1957) durch Versuche mit Tabakblättern.

Nach Bäbler (1957) enthält unter Glas gezogener Tabak nur etwa $^1/_{10}$ der Gesamtpolyphenolmenge von Freilandpflanzen. Dies veranlaßte Frey-Wyssling und Bäbler (1957) zur Vermutung, daß dieser Ausfall durch den Mangel an kurzwelliger Strahlung bedingt sei, da diese durch die Gewächshausverglasung abgehalten werde. Sie untersuchten dabei die Abhängigkeit des Rutin- und Chlorogensäuregehaltes von der Bestrahlung der Tabakpflanzen mit ultraviolettem Licht. Sie fanden, daß der Rutingehalt nicht beeinflußt wird, während der Chlorogensäuregehalt in bestrahlten Pflanzen erheblich höher war als in unbestrahlten Individuen.

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, den vermuteten Zusammenhang zwischen Polyphenolgehalt von Tabak und Ultraviolettbestrahlung genauer abzuklären.

2. Die Biosynthese der Polyphenole Rutin und Chlorogensäure

a) Rutin. Bei allen Arbeiten über die Biosynthese der pflanzlichen Flavonoide wird immer wieder auf deren einheitliches C-Gerüst hingewiesen, das sich vereinfacht als $^{A}C_6$-C_3-$^{B}C_6$ darstellen läßt, wobei $^{A}C_6$ und $^{B}C_6$ die beiden aromatischen Ringe A und B darstellen (Geissmann und Hinreiner 1952). Aus den meisten Arbeiten über die Biosynthese dieses C-Gerüstes geht hervor, daß immer die C_3-$^{B}C_6$-Einheit als Baustein auftritt. Diesem Verbindungstyp gehört eine ganze Reihe von wichtigen pflanzlichen Stoffen an: Phenylbrenztraubensäure, Phenylalanin, Tyrosin, DOPA (Dioxyphenylalanin), Ferulasäure, Coniferylalkohol usw. Birch, Donovan und Moewus (1953) konnten an *Chlamydomonas*-Mutanten zeigen, daß diese C_3-$^{B}C_6$-Einheit des Quercetins über Phenylalanin-Tyrosin-DOPA-Kaffeesäure aufgebaut wird, während der $^{A}C_6$-Ring über meso-Inosit-Phloroglucin entsteht und sich mit der Kaffeesäure über eine nichtidentifizierte Zwischenstufe X zu Quercetin verbindet. Für unsere Betrachtung ist hierbei von Interesse, daß Quercetin die unmittelbare Vorstufe des Rutins darstellt. Watkin, Underhill und Neish (1957) untersuchten indessen die Biosynthese dieses Flavonoids sehr eingehend an *Fagopyrum* und konnten zeigen, daß der Aufbau der C_3-$^{B}C_6$-Einheit von Zucker aus über Shikimisäure-Phenylbrenztraubensäure erfolgt, wobei letztere im Gleichgewicht mit Phenylalanin und Zimtsäure stehen soll. Der $^{A}C_6$-Ring hingegen wird nach diesen Autoren aus 3 „aktivierten Acetyl-Gruppen" (Acetyl-CoA) gebildet. Der Ringschluß soll aber erst nach der Kondensation dieser C_6-Kette mit der Phenylbrenztraubensäure erfolgen. Die Synthese der C_3-$^{B}C_6$-Einheit kann aber sicher auch über DOPA verlaufen, da die α-Aminosäuren zu den entsprechenden α-Ketosäuren transaminiert werden können (Baldwin 1957).

b) Chlorogensäure. Auch die Chlorogensäure enthält das C_3-$^{B}C_6$-Gerüst, diesmal in Form der Kaffeesäure. Reznik und Urban (1957) untersuchten die Biosynthese dieser aromatischen Säure mit Hilfe der Tracertechnik und fanden, daß β-C^{14}-markierte Ferulasäure bei *Triticum* zu etwa 35% in die Chlorogensäure eingelagert wird. Giovannozzi (1957) stellte mit Hilfe der Resultate von Robinson (1931, 1936) eine Übersicht über die Biosynthese der Tabakpolyphenole zusammen, nach welcher die Kaffeesäure aus Phenylalanin über DOPA entstehen soll. Zu den gleichen Resultaten gelangte Reid (1958). Über die Biosynthese der Chinasäure, der zweiten Säure des Depsides Chlorogensäure, scheint wenig Klarheit zu herrschen. Davis (1955) fand, daß die Chinasäure von einigen Mikroorganismen zu 5-Dehydrochinasäure oxydiert wird, und vermutet daher, daß dieser Weg auch in umgekehrtem Sinne ablaufen könne. Dabei soll das Dehydrierungsprodukt aus Sedoheptulose-diphosphat entstehen (Übersicht bei Evans 1958).

Die Biosynthese der C_3-C_6-Verbindungen wurde vorwiegend an Mikroorganismen untersucht, im besonderen jene von Tyrosin und

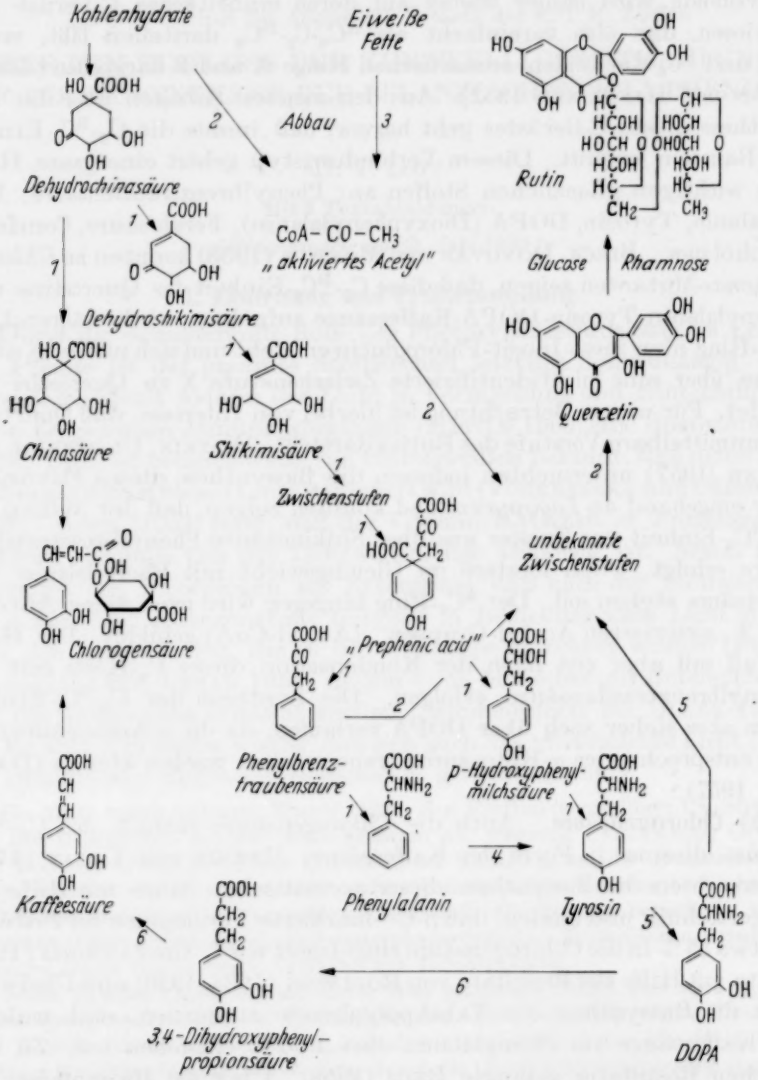

Abb. 1. Biosynthese von Rutin und Chlorogensäure. Zusammenstellung der Resultate von: 1. Davis (1955); 2. Watkin, Underhill und Neish (1957); 3. Netter (1959); 4. Kaufmann (1957); 5. Birch, Donovan und Moewus (1953); 6. Robinson (1931)

Phenylalanin. Diese beiden Aminosäuren können je auf verschiedenem Wege entstehen, wobei die Präpheninsäure — als Umwandlungsprodukt der Shikimisäure — die Vorstufe bildet. Die Überführung von Phenyl-

alanin in Tyrosin konnte auf enzymatischem Wege von KAUFMANN (1957) gezeigt werden.

Auf Grund der bekannten Reaktionsschritte kann das auf S. 482 wiedergegebene Schema für die Biosynthese der beiden Polyphenole Rutin und Chlorogensäure zusammengestellt werden.

Das Schema steht zwar teilweise im Widerspruch zu den Resultaten von SHIROYA, HATTORI und SHIROYA (1955), die der Polyphenoloxydase des Tabaks die Fähigkeit der Tyrosinaseoxydation absprechen. BÄBLER (1957) sieht darin die Erklärung dafür, daß im Tabak kein DOPA nachweisbar ist (TISNES und CHAPUT 1955, GIOVANNOZZI 1955). Dies ist erstaunlich, da doch die biochemische Erfahrung zeigt, daß bei Anwesenheit eines bestimmten Fermentes auch dessen Substrat gefordert werden kann. Daß aber die DOPA-Oxydaseaktivität im Tabak vorhanden ist, zeigten FREY-WYSSLING, SZARKOWSKI und BIRNSTIEL (1959).

Darüber hinaus wiesen FREY-WYSSLING und SZARKOWSKI (1959) in Tabaksamen Cresolase- und Catecholaseaktivität nach. Es bestehen deshalb keine Zweifel über das Vorkommen des Enzyms in der Tabakpflanze. Die negativ verlaufenen Versuche von SHIROYA et al. sind möglicherweise Versuchsartefakte, die ihre Erklärung in der langen Induktionsperiode der Cresolaseaktivität des Fermentkomplexes sowie in der schlechten Löslichkeit des Tyrosins in Wasser finden. Daß verschiedene Autoren kein DOPA fanden, ist noch kein Beweis dafür, daß die Biosynthese einzelner C_3-C_6-Verbindungen nicht doch über diese Aminosäure verlaufen kann. Man muß vielmehr annehmen, daß das gebildete DOPA laufend durch die Folgereaktionen verbraucht wird.

Es soll festgehalten werden, daß das Schema auf Grund von Resultaten mit verschiedenen Objekten zusammengestellt wurde. Es ist jedoch anzunehmen, daß die einzelnen Reaktionsschritte im allgemeinen in allen Pflanzen gleich verlaufen.

3. Methodik

a) Versuchsanordnung. Es wurden Pflanzen gleichzeitig in verschiedenen Abständen von der gleichen Strahlungsquelle aufgezogen. Als UV-Lampe diente ein Quecksilberbrenner aus einer Mischlichtlampe (Osram HWA 500; 260 W; UV-Anteil ca. 10%), deren Glaskolben entfernt worden war. (Parallelversuche mit Freiland- und Gewächspflanzen.)

Um den Einfluß des kurz- und langwelligen UV-Lichtes kennenzulernen, wurde in einer anderen Versuchsreihe, die nur an Gewächshauspflanzen ausgeführt wurde, die eine Hälfte der Pflanzen mit einer 1 mm dicken Plexiglasfolie abgedeckt. Diese Folie filterte alles Licht unter 350 mμ heraus.

In sämtlichen Versuchen erhielten die Versuchspflanzen eine zum natürlichen Tageslicht zusätzliche tägliche UV-Bestrahlung von 15 Std, nämlich von 0530 bis 2030 während ca. 75 Tagen.

b) Versuchspflanze. In der Einleitung wurde erwähnt, daß sich Freiland- und Gewächshaustabak in ihrem Polyphenolgehalt ganz wesentlich unterscheiden.

Diese Unterschiede geben bereits eine gute Grundlage für die Untersuchung von äußeren Einflüssen auf die Biosynthese der Polyphenole. Vereinfachend wirkt sich die Tatsache aus, daß die verwendete schweizerische Tabaksorte *Nicotiana tabacum* var. *Mont Calme brun* im Gegensatz zu den afrikanischen Tabaken (Pearse und Swain 1957) nur die beiden Polyphenole Chlorogensäure und Rutin in erfaßbaren Mengen enthält (Lott 1957). Zur Untersuchung gelangten jeweils die Blätter der gleichen Insertionshöhe.

c) Fixierung des Blattmaterials. Da nicht alle Versuchspflanzen gleichzeitig ausgewertet werden konnten, mußten die Blätter zur späteren Aufarbeitung fixiert werden. Bäbler (1957) gab eine Methode an, die auf einem Hitzeschock zur Denaturierung der Eiweiße im allgemeinen und der Fermente im speziellen beruht. Die Polyphenoloxydase soll dadurch ihre Wirksamkeit auf die Substrate einbüßen. Der Hitzeschock erwies sich insofern als ungenügend, als stets gewisse Mengen der Polyphenole durch Autoxydation (Kataka, Hamashima und Taguchi 1959) der quantitativen Messung entzogen werden.

Nach Entfernung der Mittelrippen imbibierte man die Blatthälften durch dreimaliges Evakuieren mit reinstem Stickstoff (hergestellt nach Meyer und Ronge 1939). Nach dem Zerkleinern wurde das Blattmaterial in einen Waring-Blendor gebracht und mit der dreifachen Menge Aceton während 2 min homogenisiert. Gleich anschließend erfolgte die Trocknung am Wasserstrahlvakuum bei 30° C. Die Trocknungsdauer betrug etwa 45 min. Nach Einschluß unter reinstem Stickstoff in Ampullen wurde das so erhaltene Pulver im Kühlschrank aufbewahrt.

d) Extraktion der Polyphenole. Mit kleinen Abänderungen gelangte die von Bäbler (1957) entwickelte Extraktionsmethode zur Anwendung. Die Blattfarbstoffe wurden im Soxhlet mit Chloroform und die Polyphenole mit reinem Methanol während 45 Std (anstelle von Äther bzw. Methanol-Essigester-Gemisch während 36 Std) extrahiert. Besonderes Gewicht mußte auf eine fraktionierte Extraktion unter reinstem Stickstoff gelegt werden. Daß die Einflüsse von kleinsten Mengen Sauerstoff und andauernder Hitze von ausschlaggebender Bedeutung sind, zeigt folgender Versuch:

Acetonpulver	Gefundene Chlorogensäuremenge in Prozent des Trockengewichtes		
	a	b	c
1	2,71	2,95	3,05
2	1,8	1,96	2,06

Je 500 mg des gleichen Acetonpulvers wurden unter folgenden Bedingungen extrahiert:

a) Unter Stickstoff aus der Druckflasche (mit ca. 1% Sauerstoff) während 45 Std,

b) unter reinstem Stickstoff während 45 Std und

c) unter reinstem Stickstoff während folgenden Zeitperioden: 4, 4, 5, 8, 12, 12 Std = total 45 Std. Nach jeder Extraktionsperiode wurde das Lösungsmittel gewechselt und die vereinigten Eluate unter N_2 im Kühlschrank aufbewahrt.

Die nach c) erhaltenen Extrakte wurden am Vakuum auf 4—5ml eingeengt, im Meßkölbchen auf 10 ml aufgefüllt und unter reinstem Stickstoff im Kühlschrank aufbewahrt.

e) Trennung der Polyphenole. Da die Papierchromatographie nur für die Trennung relativ kleiner Mengen angewandt werden kann,

ergeben sich für die nachfolgende quantitative Bestimmung der Stoffe entsprechend größere Fehlermöglichkeiten. Es wurde deshalb eine Methode zur säulenchromatographischen Trennung der Polyphenole Chlorogensäure und Rutin ausgearbeitet.

α) *Rutin*. NEU (1958, 1960), GRASSMANN, HOERMANN und HARTL (1956) wie auch HOERHAMMER, WAGNER und LEEB (1957) trennten Flavonoide an Polyamid. Nach den hier durchgeführten Versuchen eignet sich dieser Kunststoff vorzüglich zur Abtrennung des Rutins von Chlorogensäure, konnte doch in Testversuchen gezeigt werden, daß die Elution von bekannten aufgetragenen Rutinmengen quantitativ erfolgt, während die Chlorogensäure ebenso quantitativ adsorbiert bleibt. Das Polyamidpulver wurde aus Grilonschnitzeln nach einem Rezept der Firma Hovag[1] hergestellt:

100 g Schnitzel wurden unter Schutzgas (N_2) in 500 g Äthylenglykol bei 185° C gelöst. Beim Abkühlen fiel bei ca. 20° C das Polyamid als Pulver aus, das abgenutscht, mit Methylalkohol und destilliertem Wasser gewaschen und anschließend getrocknet wurde.

Durch mehrmaliges Evakuieren wurde das Pulver mit Methanol imbibiert und als Aufschlämmung portionenweise in ein Chromatographierrohr gegossen, so daß die fertig sedimentierte Säule 2 × 16 cm maß. Zur Abtrennung des Rutins wurde 1 ml des zu analysierenden Blattextraktes auf die Säule gegeben und anschließend mit Methanol eluiert. Mit Hilfe eines Fraktionen-Collectors wurden 20 Fraktionen von 7 ml aufgefangen.

β) *Chlorogensäure*. Theoretisch sollte es möglich sein, eine solche phenolische Säure an Ionentauschern zu chromatographieren, wie dies JOHNSON, MAYER und JOHNSON (1951) an Duolite A-4 und A-2 gelungen ist. Es war aber nie möglich, mehr als 75% der aufgetragenen Chlorogensäuremenge zurückzugewinnen.

VUATAZ, BRANDENBERGER und EGLI (1959) beschrieben die Trennung von Teepolyphenolen an Cellulosepulver. Sie eluierten die beladenen Säulen mit Wasser und erhielten die Chlorogensäure mit anderen Phenolen zusammen in den ersten Fraktionen. Hingegen scheiterten die eigenen Versuche zu deren quantitativen Elution immer daran, daß die aromatische Säure über zu viele Fraktionen verteilt war. So wurde die Erfahrung aus der Papierchromatographie benutzt, wonach mit Methanol-Wassergemischen saubere Fleckenbilder erhalten werden. Mit einer solchen Mischung gelang es, das Depsid in maximal 4 Fraktionen zu 7 ml quantitativ zurückzugewinnen. Bei einem Mischungsverhältnis von Methanol-Wasser wie 1:7 war auch eine saubere Abtrennung von Rutin möglich, das bei größerem Methanolzusatz der Chlorogensäurefraktionen zu dicht folgt. Eine quantitative Erfassung des Rutins gelang indessen auf diese Weise nicht, da es bei dem verwendeten Lösungsmittelgemisch auf zu viele Fraktionen verteilt und damit die nachfolgende quantitative Bestimmungsmethode mit zu großen Fehlermöglichkeiten behaftet war.

[1] Für meine Versuche überließ mir die Firma Hovag, Domat-Ems, freundlicherweise die Grilonschnitzel, wofür ihr auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

Cellulosepulver (Whatman, aschenfrei) wurde durch mehrmaliges Evakuieren mit einer Methanol-Wasser-Mischung (1:7) durchtränkt. Mit dieser Aufschlämmung wurde eine Säule von 2×18 cm sedimentiert und mit dem gleichen Lösungsmittel gewaschen. 1 ml des zu analysierenden Extraktes wurde auf die Säule gegeben, mit 15 ml destilliertem Wasser gewaschen und anschließend mit Methanol-Wasser (1:7) eluiert. Wiederum wurden 7 ml-Fraktionen aufgefangen.

Jede Säule wurde vor Beginn der Blattextraktanalysen mit bekannten Mengen der entsprechenden Substanzen getestet. Um alle Fehlerquellen zu vermeiden, wurde der gleiche Vorgang auch nach jeder Trennung wiederholt.

f) Quantitative Bestimmung der Polyphenole. Auf Grund ihres chemischen Aufbaues haben alle aromatischen Verbindungen eine spezifische Absorption im ultravioletten Licht. Diese Tatsache benutzten denn auch viele Autoren als Grundlage zur quantitativen Bestimmung der Polyphenole (Sammelreferat bei Williams u. Mitarb. 1958).

Nur wenige Autoren versuchten, diese Stoffgruppe auf andere Art zu erfassen. So arbeitete Bilinska (1958) mit Titansalzfarbkomplexen und Weaving (1960) verglich zwei ähnliche Methoden, die ebenfalls auf der Komplexbildung mit Rutin beruhen. Constantinescu und Oteleanu (1956) hydrolysierten das Rutin und bestimmten die entstandene Quercetinmenge auf Grund des Farbkomplexes mit Antimonsalzen spektrophotometrisch. Weaving (1957) benutzte die Oxydierbarkeit der Chlorogensäure, um diese iodometrisch zu bestimmen. Aus seinen Resultaten kann aber geschlossen werden, daß die Reaktion nicht stöchiometrisch verläuft. Davidek und Manousek (1958) versuchten das Rutin polarographisch zu erfassen. Diese Möglichkeit ist aber nur realisierbar, wenn die Differenz der Normalpotentiale der in einer Lösung zu bestimmenden Stoffe bedeutend größer ist als diejenige von Chlorogensäure und Rutin (25 mV, Birnstiel 1960). Hingegen können diese beiden Stoffe nach vorhergehender Auftrennung redoxpotentiometrisch quantitativ erfaßt werden.

Die zu messenden Fraktionen (7 ml) wurden in einem speziellen Titrationsgefäß (Lott 1960) mit Methanol auf 10 ml aufgefüllt, mit 0,28 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt und durch Stickstoffspülung in steter Bewegung gehalten. Die Titration wurde mit $2 \cdot 10^{-3}$ m Cerisulfatlösung (in 1 n Schwefelsäure) bis zu einem etwa 150 mV über dem Normalpotential E_0 des entsprechenden Stoffes, bei jeder Titration aber gleich hohen Endpotential durchgeführt. Auf Grund der mit Testsubstanzen aufgestellten Eichkurven kann aus dem Verbrauch an Cerilösung auf die Menge des Polyphenoles geschlossen werden. Um Fehler am Vergleichshalbelement — als solches diente eine Chinhydronelektrode — oder an der Platinelektrode auszuschalten, wurden zwischen der Titration der Chlorogensäure- bzw. Rutinfraktion bekannte Mengen der entsprechenden Testsubstanzen titriert. Diese Methode erlaubt eine Genauigkeit von $\pm 0{,}02$ mg für Rutin und $\pm 0{,}01$ mg für Chlorogensäure.

4. Resultate

In einem Vorversuch konnten die Resultate von FREY-WYSSLING und BÄBLER (1957) bestätigt werden. Tabakpflanzen wurden im Freiland in genügend großen Töpfen bis zur Bildung des 15. Blattes gezogen. Gleichzeitig mit der Fixierung der 8. Blätter wurden die Pflanzen ins Gewächshaus genommen, wo sie bis nach der Bildung des 26. Blattes (beginnende Blüte) verblieben. Getrennt wurden nun die 10. Blätter (im Freiland noch gebildet) und die 20. Blätter (vollständig im Gewächshaus ausgewachsen) auf ihren Gehalt an Polyphenolen untersucht (Tabelle 1).

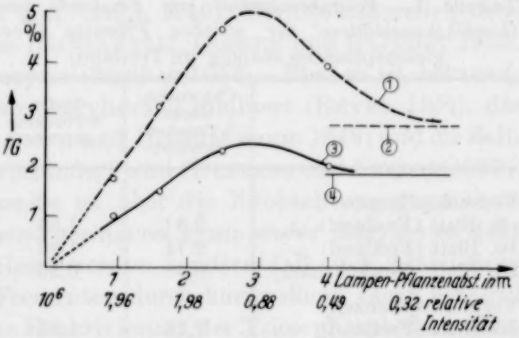

Abb. 2. Steigerung der Polyphenolmenge in Freilandtabak durch zusätzliches UV. Abhängigkeit von der Intensität. Chlorogensäure: *1* mit UV; *2* Normalwert. Rutin: *3* mit UV; *4* Normalwert. *TG* Trockengewicht

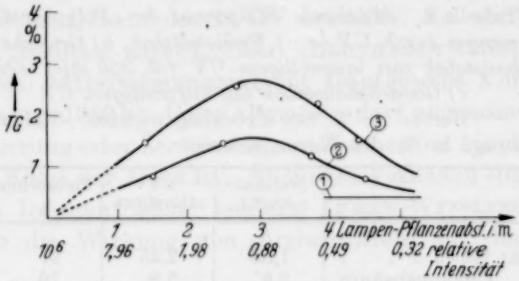

Abb. 3. Steigerung der Chlorogensäuremenge in Gewächshaustabak durch UV. Abhängigkeit von der Intensität und spektralen Zusammensetzung des Zusatzlichtes (für Rutin vgl. Tabelle 2). *1* Normalwert; *2* mit langwelligem UV; 3 mit kurzwelligem UV; *TG* Trockengewicht

Wie ersichtlich, findet beim Wechsel von Freilandpflanzen ins Gewächshaus keine gleichmäßige Verteilung der Polyphenole in der ganzen Pflanze statt. Ebensowenig werden Rutin oder Chlorogensäure zu anderer Verwendung in den Stoffwechsel zurückgenommen.

Wie aus Abb. 2 und 3 hervorgeht, ist durch (zum Tageslicht zusätzliche) UV-Bestrahlung eine Steigerung des Rutin- und des Chlorogensäuregehaltes über den Normalwert möglich. Durch Veränderung des Abstandes Pflanze-Lampe konnte eine schöne Abhängigkeit des Polyphenolgehaltes von der zusätzlichen Lichtintensität ermittelt werden. Ansteigende Intensität an kurzwelligem Licht läßt den Gehalt an Rutin und Chlorogensäure ebenfalls ansteigen. Zu große Intensität dagegen bewirkt eine Schädigung der Pflanze. Dies kommt im Aussehen der Blätter zum Ausdruck. Mit der morphologischen Veränderung geht eine Beeinträchtigung der Polyphenolsynthese einher. Der Chlorogensäure- und der Rutingehalt nehmen rapid ab und lassen sich theoretisch auf den Lampenabstand 0 auf 0 extrapolieren.

Während die Erhöhung des Chlorogensäuregehaltes durch UV-Zusatz in Freilandpflanzen nur etwa 79% beträgt, erreicht sie in Gewächshausindividuen mit langwelligem UV bereits den Wert von 287% (Tabelle 2). Ganz erstaunlich ist der Einfluß des kurzwelligen UV auf Gewächshaustabak. Dort wird eine maximale Steigerung von 550% registriert. Mit einem entsprechenden Gehalt von 2,6% des Trockengewichtes ist der Normalwert von Freilandtabak (2,8%) nahezu erreicht.

Tabelle 1. *Polyphenolgehalt von Freiland- und Gewächshausblättern der gleichen Pflanzen* (Vergleichspflanzen ständig im Freiland)

	Chlorogensäure % Trockengewicht	Rutin % Trockengewicht
Versuchspflanzen:		
8. Blatt (Freiland) . .	2,8[1]	1,85
10. Blatt (Freiland) . .	2,74	1,80
20. Blatt (Gewächshaus)	0,4	0,35
Vergleichspflanzen:		
20. Blatt (Freiland) . .	2,78	1,81

[1] Alle Resultate dieser Arbeit stellen Mittelwerte aus mindestens 3 Messungen dar.

Tabelle 2. *Maximale Steigerung der Polyphenolmengen durch UV in a) Freilandtabak, b) Gewächshaustabak* mit *langwelligem UV (ab 350 mμ) und c) Gewächshaustabak mit kurzwelligem UV*

Werte: in % des Trockengewichtes. Steigerung: in % des Normalwertes.

	Normalwert	UV-stimuliert	Steigerung %
a) Rutin	1,85	2,35	27
Chlorogensäure	2,8	5,0	79
b) Rutin	0,35	0,37	6
Chlorogensäure	0,4	1,55	287
c) Rutin	0,35	0,45	28,5
Chlorogensäure	0,4	2,6	550

Nicht so ausgeprägt ist der Einfluß des ultravioletten Lichtes auf die Biosynthese des Rutins. Die langwellige Strahlung bewirkt eine maximale Steigerung von 6%. Größer ist die Wirkung des kurzwelligen UV-Lichtes. Interessant ist dabei die Beobachtung, daß bei gleicher Lichtquelle und gleichem Abstand die Erhöhung des Rutingehaltes in Freiland- und Gewächshauspflanzen ungefähr gleich groß ist (27 bzw. 28,5%). Es sei noch darauf hingewiesen, daß in Übereinstimmung mit Ferguson und Weaving (1959) auch in unbestrahltem Gewächshaustabak Rutin gefunden wurde.

5. Diskussion

Das Absorptionsgebiet der Nucleinsäuren und Eiweiße (260—280 mμ) liegt im Emissionsbereich der verwendeten Strahlungsquelle. Die Wichtigkeit dieser beiden Stoffgruppen im gesamten Stoffwechselgeschehen läßt vermuten, daß auch die Biosynthese der pflanzlichen Polyphenole damit in engem Zusammenhang steht. Ob sie aus direkten oder indirekten Umwandlungs- oder Abbauprodukten der Eiweiße und Kohlenhydrate oder — durch spezifische Enzyme katalysiert — direkt aus den

einfachsten Bausteinen aufgebaut werden, bleibe vorläufig dahingestellt. Das ultraviolette Licht wirkt im allgemeinen auf die Eiweiße zerstörend und damit als Enzyminhibitor (FINCKELSTEIN und MCLAREN 1949). Bekannt ist dies unter anderem an den Beispielen der Triosephosphatdehydrogenase (SHUGAR 1951a), Glutaminsäure-Asparaginsäure-Transaminase (SCHLENK, FISHER und SNELL 1946), Bernsteinsäuredehydrogenase und DPN-Diaphorase (CANZANELLI, GOSSEN und RAPPORT 1955, HANKE 1959a) wie des Lysozyms (SHUGAR 1952). Ebenso ist bekannt, daß auch die oxydative Phosphorylierung inhibiert (BEYER 1959), die Proteinsynthese gestört (PEACOCK und HINSHELWOOD 1948) und die Zellteilung von *Escherichia coli* verhindert wird (DEERING und SETLOW 1957).

Der Zerstörung der Eiweiße ist aber die Beobachtung gegenüberzuhalten, daß bei entsprechend geringerer Dosis weder Enzyme zerstört noch in ihrer Aktivität inhibiert werden, sondern daß auch Aktivierung und Reaktivierungen von Fermenten durch kurzwelliges Licht bekannt sind. Als Beispiel sei hier die Reaktivierung der Triosephosphatdehydrogenase angeführt (SHUGAR 1951 b), die in Anwesenheit ihres Koenzyms DPN (Diphosphopyridinnucleotid) in *vitro* beobachtet wurde. Als Beispiel für eine Aktivierung in *vivo* sei die allgemein bekannte Tatsache der Bräunung der menschlichen Haut durch UV erwähnt. Sie wird auf eine Aktivierung der Tyrosinase zurückgeführt (LEUTHARDT 1959). Besonders schön kann diese Aktivitätszunahme im Hautgewebe von Albinos gezeigt werden (HANKE 1959b). Ganz allgemein darf angenommen werden, daß die Aktivierung oder Zerstörung von Fermenten durch kurzwellige Strahlung eine Frage der Dosis ist. Ähnliches Verhalten der Pflanzen ist auch für die Ionenaufnahme bekannt (FREY-WYSSLING 1949) und gilt ebenso für die Wirkung von Arzneimitteln auf den menschlichen Körper.

Auf Grund dieser Tatsachen können auch die Resultate der Bestrahlungsversuche gedeutet werden. Die UV-Intensität nimmt mit kleiner werdendem Abstand Lampe—Pflanze zu. Diese Zunahme bewirkt vorerst eine Aktivierung zum mindesten derjenigen Enzyme oder Enzymkomplexe, die an der Biosynthese direkt oder indirekt beteiligt sind. Wird die Intensität zu groß — d. h. wird die optimale Aktivierungsenergie überschritten —, tritt bereits die oft beschriebene Schädigung der Enzymeiweiße ein, die mit weiter zunehmender Intensität mit einer vollständigen Störung des gesamten Stoffwechsels und dem Tod der Pflanze endigt.

Aus den Resultaten geht hervor, daß DOPA in viel geringerem Maße zu Rutin weiterverarbeitet wird als zu Chlorogensäure (vgl. Abb. 1). Dafür müssen folgende Punkte in Erwägung gezogen werden:

1. Die Folgereaktionen des Tyrosin-DOPA-Gleichgewichtes werden durch UV in Richtung Chlorogensäure, weit weniger in Richtung Rutin beschleunigt.

2. Am Aufbau der Chlorogensäure wirkt ein Enzym mit, das durch kurzwelliges Licht aktiviert wird und das an der Rutinsynthese nicht teilnimmt.

3. Die Bereitstellung von „aktiviertem Acetyl" zur Bildung des aromatischen B-Ringes des Quercetins (vgl. Abb. 1) ist beschränkt, kann aber durch UV in geringem Maße gesteigert werden.

Die Punkte 1 und 2 dürfen als möglich angenommen werden; sie können jedoch auf Grund der vorliegenden Resultate nicht beurteilt werden. Dagegen drängt sich eine Diskussion der dritten Möglichkeit auf. Owen (1957) konnte zeigen, daß UV-Bestrahlung die Atmung von Tabakblättern steigert. Zu ähnlichen Resultaten gelangten Farkas, Konrad und Kiraly (1957). Sie erhielten für grüne Weizenkeimlinge nach UV-Bestrahlung eine um 25—30% höhere Atmung als für unbestrahlte Kontrollen. Eine gesteigerte Atmung bedingt aber einen erhöhten Umsatz von „aktiviertem Acetyl". Alle gewöhnlichen wie auch enzymkatalysierten Reaktionen streben einem Gleichgewicht zu (Netter 1959). Damit ist auch die Annahme gerechtfertigt, daß bei gesteigertem Umsatz von „Acetyl-CoA" aktivierte „Acetyle" in vermehrtem Maße in die Biosynthese des Quercetins eingehen.

Damit besteht die Möglichkeit, den in bestrahlten Gewächshaus- und Freilandpflanzen gleichermaßen um etwa 28% erhöhten Rutingehalt zu erklären. Der Rutingehalt kann damit auch in den vermuteten Zusammenhang mit der Atmung gebracht werden.

Daß aber auch die Biosynthese der Chlorogensäure bis zu einem gewissen Grade mit der Atmung zusammenhängt, geht aus den Resultaten von Zucker und Levi (1959) hervor. Sie konnten zeigen, daß bei Abwesenheit von Sauerstoff keine oder nur wenig Chlorogensäure gebildet wird. Damit erklären sie auch die Beobachtung, daß in der Kartoffelknolle nur in den Rindenschichten Chlorogensäure gefunden werden kann

Der Befund, daß ultraviolettes Licht die Tabakpflanzen zur gesteigerten Ausbildung von Stoffen anregt, die ihrerseits ultraviolettes Licht absorbieren, hat seine interessante Parallele in der Anthocyanbildung durch verschiedenste Pflanzenteile. Dort bringt sichtbares Licht die Biosynthese von Pigmenten in Gang, welche ihrerseits im sichtbaren Licht ihre Absorptionsmaxima haben.

Es wurde schon darauf hingewiesen, daß sich Freiland- und Gewächshauspflanzen im Polyphenolgehalt unterscheiden (Frey-Wyssling und Bäbler 1957). Diese Resultate konnten in eigenen Versuchen bestätigt werden (Tabelle 1). Sie widerlegen die Ansicht Sprechers (1956), wonach Rutin wieder in den Stoffwechsel einbezogen werden soll. Es dürfte sich auch bei den von Urban (1959) angegebenen tagesperiodischen Schwankungen im Flavonoid- und Zimtsäurederivatgehalt von

Triticum-, *Zea-* und *Helianthus*-Blättern eher um die entgegengesetzt verlaufende tagesperiodische Schwankung des Wassergehaltes handeln, da die Analysenresultate auf Frischgewicht bezogen wurden.

Es sei hier daran erinnert, daß Gewächshauspflanzen gegenüber Freilandindividuen hinsichtlich Blattausbildung und durch eine bedeutend schwächere Behaarung einen juvenilen Eindruck machen (EICHENBERGER 1952). Hierzu gesellen sich nun die biochemischen Unterschiede im Polyphenolgehalt. Ferner fand BIRNSTIEL (1959), daß auch der Zucker- und der Eiweißgehalt bedeutend niedriger sind als in entsprechend inserierten Blättern von Freilandpflanzen.

Durch Bestrahlung der Gewächshauspflanzen mit UV bleibt die Morphologie der Pflanzen unverändert. Wie sich aus den Resultaten ableiten läßt, kann auch der biochemische Unterschied nicht allein auf die Lichtqualität zurückgeführt werden. Trotzdem mit UV der Chlorogensäuregehalt von Gewächshauspflanzen in den Bereich des Spiegels der Freilandnormalwerte gebracht worden ist, muß bedacht werden, daß auf die Freilandpflanzen keine Strahlung mit Wellenlängen $<390\,m\mu$ einwirkt. Es müssen somit noch andere Faktoren den pflanzlichen Stoffwechsel im allgemeinen und die Biosynthese der Polyphenole im speziellen beeinflussen, wie z. B. die Temperaturschwankungen Tag—Nacht, die im thermostatierten Gewächshaus wegfallen.

Abschließend sei noch auf die Untersuchungen von URBAN (1959) hingewiesen, wonach geschlossen werden muß, daß die biochemischen Unterschiede zwischen Freiland- und Gewächshauspflanzen nicht auf Tabak beschränkt sind, sondern daß es sich dabei um eine ganz allgemeine Erscheinung handelt.

Summary

1. A new method for the estimation of polyphenols in plant material is described, involving column chromatography of the methanol extracts from tobacco leaf acetone powder. With a polyamide column, on the one hand, rutin could be separated from chlorogenic acid and quantitatively eluted. With a cellulose column, on the other hand, chlorogenic acid was separated from rutin and quantitatively eluted.

2. The separated polyphenols were estimated by redox potentiometric titration with Ceri-solution in a sulphuric acid medium. The method gave an accuracy of $\pm 0{,}02$ mg for rutin and $\pm 0{,}01$ mg for chlorogenic acid.

3. With this method it was possible, in contrast to the findings of earlier workers, to find rutin in leaves from Swiss tobacco plants grown in the greenhouse.

4. The influence of UV light on the polyphenol contents of open air and greenhouse plants of *Nicotiana tabacum var. Mont Calme brun* was

studied, and a well-marked relationship demonstrated. Treatment greatly increased the polyphenol content. However, with high intensity radiation the general plant metabolism becomes abnormal, as shown by reduced polyphenol content and plant appearance.

5. Ultra violet light irradiation can cause a maximum increase above normal in chlorogenic acid content of 79% in the case of open air plants, and of 550% in that of greenhouse plants. In contrast the rutin content can be raised only by 27% for open air plants and by 28.5% for greenhouse plants. By removing shorter wave lengths (under 350 mμ) the maximum contents for greenhouse tobacco fell to 287% above normal for chlorogenic acid and 6% above normal for rutin.

6. From a study of the relevant literature a scheme for the biosynthesis of rutin and chlorogenic acid is proposed.

7. The results of the experiments are discussed and their relation to this scheme considered. The increased production of chlorogenic acid under ultra violet light may be due to an activation of enzymes, while the biosynthesis of rutin possibly depends on an increased turnover of activated acetyles.

8. The results indicate that biochemical differences between open air and greenhouse specimens of the same plant do not depend only on differences in light quality, but that other factors (e. g. temperature variations) may play an important rôle.

Diese Arbeit wurde im pflanzenphysiologischen Laboratorium des Institutes für Allgemeine Botanik der E. T. H. auf Anregung und unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. A. Frey-Wyssling ausgeführt. Die Untersuchungen wurden unterstützt durch Mittel der SOTA (Société coopérative pour l'Achat du Tabac indigène), für die hier aufs beste gedankt sei.

Literatur

Bäbler, S.: Über die Verbräunung des Tabaks. Diss. ETH. Zürich 1957.

Baldwin, E.: Biochemie, Einführung in ihre Dynamik. Weinheim 1957.

Beyer, R. E.: The effect of ultraviolet light on mitochondria. I. Inactivation and protection of oxidative phosphorylation during far-ultraviolet irradiation. Arch. Biochem. **79**, 269—274 (1959).

Bilinska, U.: Colorimetric determination of rutin with quadrivalent titanium salts. Acta Pol. pharm. **15**, 123—128 (1958).

Birch, A. J., F. W. Donovan and F. Moewus: Biogenesis of flavonoids in *Chlamydomonas eugametos*. Nature (Lond.) **172**, 902—904 (1953).

Birnstiel, M. L.: Mündliche Mitteilung 1959.

Birnstiel, M. L.: Über das Redoxpotential lebender und absterbender Pflanzengewebe (Tabakverbräunung). Diss. ETH. Zürich 1960.

Blank, F.: Anthocyanins, Flavones, Xanthones. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. X, S. 300—353. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

Braun, W.: Untersuchungen über den Einfluß langwelliger UV-Strahlen auf die Inhaltsstoffe verschiedener Arzneipflanzen. Beitr. Biol. Pflanz. **26**, 331—398 (1939).

Canzanelli, A., R. Gossen and D. Rapport: Effect of ultraviolet irradiation on succinic and cytochrome oxidase system. Amer. J. Physiol. (Lond.) **183**, 602 (1955).

Constantinescu, D. G., and U. R. Otelean: Analytical study of rutin. Photometrical microanalysis of quercetin and rutin in the presence of each other. Farmacia **4**, 244—253 (1956).

Davidek, J., and O. Manousek: Polarographic determination of rutin in pharmaceutical preparations. Čs. Farmacol. **7**, 73 (1958). Zit. nach Tob. Abstr. Nr 15 (1959).

Davis, B. D. (1955): Zit. nach Evans 1958.

Deering, R. A., and R. B. Setlow: Inhibition of cell division of *Escherichia coli* by low doses of ultraviolet light. Science **126**, 397—398 (1957).

Eichenberger, E.: Über die Atmung lebender Tabakblätter. Diss. ETH. Zürich 1952.

Errera, M.: Mechanisms of biological action of ultraviolet and visible radiations. Progr. Biophysics **3**, 88—130 (1953).

Evans, Ch.: Metabolism of aromatic compounds by lower plants. Phenols, quinones, and the problem of the biogenesis of benzene nuclei. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. X, S. 454—506. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

Farkas, G. L., E. Konrad and Z. Kiraly: The effect of light on the malonate-sensitivity of plant respiration. Physiol. Plantarum **10**, 346 (1957).

Ferguson, T. P., and A. S. Weaving: Rutin in tobacco grown in greenhouse. Nature (Lond.) **183**, 64 (1959).

Finckelstein, P., and A. D. McLaren: J. polymer. Sci. **4**, 573 (1949). Zit. nach Errera 1953.

Frey-Wyssling, A.: Stoffwechsel der Pflanzen. Zürich 1949.

Frey-Wyssling, A., u. S. Bäbler: Zur Biochemie des Gewächshaustabaks. Experientia (Basel) **13**, 399—400 (1957).

Frey-Wyssling, A., u. J. W. Szarkowski: Über die Aktivität der Tyrosinase in Tabaksamen. Experientia (Basel) **15**, 462—463 (1959).

Frey-Wyssling, A., J. W. Szarkowski u. M. L. Birnstiel: Über die Oxydation von Chlorogensäure und DOPA während der Tabaktrocknung. Naturwissenschaften **46**, 602 (1959).

Geissmann, T. A., and E. Hinreiner: Theories of the biogenesis of flavonoid compounds. Bot. Rev. **18**, 77—244 (1952).

Gessner, F.: Die Wirkung des Lichts und der ultravioletten Strahlung auf die Pflanzenatmung. Planta (Berl.) **29**, 165—170 (1938).

Giovannozzi, G.: Il tabacco **59**, 327 (1955). Zit. nach Bäbler 1957.

Giovannozzi-Sermanni, G.: Ricerche analitiche su *Nicotiana tabaccum* con chromatografia su carta. VII. Alcuni composti fenolici del tabacco Maryland. Il tabacco **684**, 349—352 (1957).

Grassmann, W., H. Hoermann u. A. Hartl: Die Chromatographie von Phenolen an Polyamid. Makromol. Chem. **21**, 37—42 (1956).

Hanke, W.: Die Beeinflussung dehydrierender Systeme der Haut durch Bestrahlung mit ultravioletten Licht. Z. Zellforsch. **50**, 644—652 (1959a).

Hanke, W.: Untersuchungen über die Redoxeigenschaften der Haut nach Bestrahlung mit ultravioletten Licht. Z. Naturforsch. **14b**, 593—599 (1959b).

Hörhammer, L., H. Wagner u. W. Leeb: Chromatographie von Flavonen an Polyamid. Naturwissenschaften **44**, 513 (1957).

Johnson, G., M. M. Mayer and D. K. Johnson: Isolation and characterization of peach tannins. Food Res. **16**, 169—180 (1951).

Katoka, S., T. Hamashima and T. Taguchi: Autoxidation of chlorogenic-acid. Jap. Monop. Corp. Central Res. Inst. Sci. Papers **101**, 1—5 (1959). Zit. nach Coresta 1 1960. Abstr. Nr 3323.

Kaufmann, S.: The enzymic conversion of phenylalanine to tyrosine. J. biol. Chem. **226**, 511—524 (1957).

Leuthardt, F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie. Berlin 1959.

Lott, H. V.: Über chemische Unterschiede zwischen Freiland- und Gewächshaustabak. Diplomarbeit ETH. 1957 (unveröffentlicht).

Lott, H. V.: Eine einfache Apparatur zur serienweisen Redoxtitration. Experientia (Basel) **16**, 431—432 (1960).

Matile, Ph.: Über die Beeinflussung der Atmung nichtassimilierender Pflanzenteile durch Licht. Beih. Schweiz. Z. Forstwesen (1960, im Druck).

Meyer, F. R., u. G. Ronge: Entfernung von Sauerstoff aus Gas mittels aktiven Kupfers. Z. angew. Chem. **52**, 637 (1939).

Netter, H.: Theoretische Biochemie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.

Neu, R.: Separation of chalcones, flavanones and flavonols by chromatography with polyamide. Nature (Lond.) **182**, 660 (1958).

Neu, R.: Ein Verfahren zur Trennung der Chalkone von den ihnen isomeren Flavanonen sowie von Flavonolen und Flavanonolen. Arch. Pharm. (Weinheim) **65**, 169—174 (1960).

Owen, P. C.: Effect of ultraviolet radiation on the respiration-rates of tobacco-leaves and its reversal by visible light. Nature (Lond.) **180**, 610 (1957).

Peacock, A. R., and C. N. Hinshelwood: Proc. roy. Soc. B 135 u. **454** (1948). Zit. nach Errera 1953.

Pearse, H. L., and T. Swain: South African tobacco. II. Identification of some phenolic constituents. S. Afr. J. Sci. **53**, 281—285 (1957).

Reid, W. W.: Biosynthesis of scopoletin and caffeic acid in *Nicotiana tabacum*. Chem. and Ind. **44**, 1439—1440 (1958).

Reznik, H., u. R. Urban: Über den Metabolismus ^{14}C-markierter Ferulasäure im Pflanzenversuch. II. Beiträge zur Biogenese der Flavanoide. Naturwissenschaften **44**, 592 (1957).

Robinson, E. A.: Nature (Lond.) **137**, 172 (1936). — J. Biochem. **25**, 1687 (1931). Zit. nach Giovannozzi-Sermanni 1957.

Ruge, U.: Der Vitamin-B-Gehalt von *Tradescantia*-Blättern in Abhängigkeit von der Wellenlänge des Lichts. Naturwissenschaften **46**, 428 (1959).

Schlenk, F., A. Fisher and E. Snell: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **61**, 183 (1946). Zit. nach Errera 1953.

Shiroya, M., S. Hattori and T. Shiroya: Studies on the browning and blackening of plant tissue. IV. Chlorogenic acid in the leaves of *Nicotiana tabacum*. Physiol. Plantarum **8**, 594—598 (1955).

Shugar, D.: Ultra-violet irradiation of triosephosphate dehydrogenase. Biochim. biophys. Acta **6**, 548—561 (1951a).

Shugar, D.: Photoreactivation in the near ultraviolet of D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. Experientia (Basel) **7**, 26—27 (1951b).

Shugar, D.: The measurement of lysozyme activity and the ultra-violet inactivation of lysozyme. Biochem. biophys. Acta **8**, 302—309 (1952).

Sprecher, E.: Beiträge zur Frage der Biogenese sekundärer Pflanzenstoffe bei der Weinraute *(Ruta graveolens L.)*. Planta (Berl.) **47**, 323—358 (1956).

Tisnes, P. J., et A. Chaput: Etude chromatographique des variations des acides aminés libres du tabac au cours de la fermentation accélérée et naturelle. Ann. tab. Bergerac **2**, 61—70 (1955).

URBAN, R.: Physiologische Untersuchungen über einige Flavonoide und Oxyzimtsäuren. I. Auswahl und Identifizierung der bearbeiteten Stoffkomponenten. Planta (Berl.) **52**, 47—64 (1958).

URBAN, R.: Physiologische Untersuchungen über einige Flavonoide und Oxyzimtsäuren. II. Untersuchungen über den jahreszeitlichen und tagesperiodischen Verlauf der Stoffbildung. Planta (Berl.) **52**, 565—582 (1959).

VOSKRENSKA, N. P., et A. G. S. GRISHIN: Influence de l'intensité et de la composition spectrale de la lumière sur le métabolisme et la productivité. Dokl. Akad. Nauk SSSR **124**, 469—472 (1959). Zit. nach Bull. signalétique. Abstr. Nr. 20—249 348 (1960).

VUATAZ, L., H. BRANDENBERGER and R. H. EGLI: Plant polyphenols. I. Separation of the tea leaf polyphenols by cellulose column chromatography. J. Chromatogr. **2**, 173—187 (1959).

WATKIN, J. E., E. W. UNDERHILL and A. C. NEISH: Biosynthesis of quercetin in buckwheat. Canad. J. Biochem. **35**, 229—237 (1957).

WEAVING, A. S.: Determination of chlorogenic acid. Nature (Lond.) **180**, 1287 bis 1288 (1957).

WEAVING, A. S.: The determination of rutin in tobacco. Tob. Science **1**, 1—6 (1960).

WILLIAMS, F. J. and coll.: Chlorogenic acids in plant materials. Their isolation and determination. Chem. and Ind. **8**, 213—217 (1958).

ZUCKER, M., and C. C. LEVI: Some factors affecting the synthesis of chlorogenic acid in disks of potato tubers. Plant Physiol. **34**, 108—111 (1959).

H. V. LOTT,
Institut für Allgemeine Botanik der E. T. H. Zürich,
Zürich, Universitätsstraße 2

Planta 55, 496—511 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

ENDOGENE RHYTHMIK UND PHOTOPERIODISCHE BLÜHINDUKTION BEI *KALANCHOE*

Von

WOLFGANG ENGELMANN

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. Juli 1960)

Einleitung

Aus den Untersuchungen mehrerer Autoren wissen wir etwas über die entscheidende Rolle der endogenen Tagesrhythmik bei der für photoperiodische Reaktionen charakteristischen Zeitmessung. Auch gibt es einige Hinweise auf den Einfluß der endogenen Tagesrhythmik auf die Hellrot- und Dunkelrotempfindlichkeit der Pflanzen. Da hier ein umfassender Überblick nicht gegeben werden kann, sei nur auf einige neuere Arbeiten hingewiesen, an die die vorliegende Untersuchung teilweise anknüpft.

MELCHERS (1956) hat an *Kalanchoe bloßfeldiana* durch Störlicht (weißer Leuchtstoffröhren) während einer 62stündigen Dunkelperiode zeigen können, daß der Wechsel von skoto- und photophiler Phase mehrmals durchlaufen wird: Der Blüheffekt zeigt je nach der zeitlichen Lage des Störlichtes eine unterschiedliche Größe. Graphisch dargestellt ergibt sich ein rhythmischer Verlauf der Lichtempfindlichkeit hinsichtlich der Blühinduktion, der das Vorhandensein der verschiedenen Phasen widerspiegelt.

KÖNITZ (1958) zeigte mit Hilfe der Störlichtmethode an *Chenopodium amaranticolor*, daß die Hemmwirkung des Lichtes in der skotophilen Phase nur für Hellrot (um 660 nm) gilt. Dunkelrotes Licht (um 730 nm) dagegen hemmt in der „photophilen" Phase. In beiden Fällen handelt es sich um das reversible Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystem, dessen Bedeutung bei der Störlichtwirkung auf die Blütenbildung bekannt ist (DOWNS 1956, dort weitere Literatur); denn die Dunkelrot-Hemmwirkung in der photophilen und die Hellrot-Hemmwirkung in der skotophilen Phase lassen sich durch Hellrot bzw. Dunkelrot reversibilisieren. Die beiden Phasen sind also nicht einfach durch Lichtbedürftigkeit bzw. Lichtempfindlichkeit gekennzeichnet, sondern durch unterschiedliche spektrale Empfindlichkeit. Leider konnte bei diesem Objekt die photophile Phase nur in der *Licht*periode mit Störlicht abgetastet werden, weil die Pflanzen in längeren Dunkelperioden (in denen ja skotophile und photophile Phasen endogen abwechseln) Schaden nehmen. Störlicht in

der Lichtperiode kann aber ganz anders wirken als in der Dunkelperiode (MEIJER 1959). Aus diesem Grunde wurden entsprechende Versuche an einer Pflanze durchgeführt, die längere Zeit im Dunkeln gehalten werden kann und dabei einige Zeit den rhythmischen Wechsel von photophiler und skotophiler Phase zeigt. Besonders geeignet ist *Kalanchoe bloßfeldiana*. Ihre photoperiodische Reaktion ist eingehend untersucht (z. B. BÜNSOW 1953a, dort weitere Literatur). Die Phasenlage der endogenen Rhythmik läßt sich an der Blütenblattbewegung erkennen (BÜNSOW 1953b).

Die Beeinflussung der Blühinduktion durch die endogene Rhythmik läßt sich auch auf eine andere Weise nachweisen: Die Pflanzen erhalten unterschiedlich lange Dunkelperioden zur Induktion. Je nach der Länge der Dunkelperiode fällt das Licht anschließend in eine photo- oder eine skotophile Phase. NANDA und HAMMER (1959) erhielten auf diese Weise eine rhythmisch verlaufende Kurve für den Blüheffekt bei Sojabohnen (Biloxi). Ähnliche Versuche wurden von mir auch an *Kalanchoe* durchgeführt.

Das Vorhandensein des Pendeluhrprinzips für Zeitmeßvorgänge wird verständlich, wenn man bedenkt, daß sehr viele Vorgänge in den Pflanzen vom Licht abhängig sind und demzufolge eine zeitliche Koordination nötig ist; besonders vollkommen ist aber diese Koordination, wenn sie nicht nur im Augenblick dafür sorgt, daß die Vorgänge in der Pflanze mit den herrschenden Außenbedingungen koordiniert sind, sondern wenn sie darüber hinaus den zukünftigen Wechsel der Außenbedingungen mit „einplant". Diese vorausplanende Koordination bewerkstelligt die endogene Rhythmik (Zusammenfassung und Literaturübersicht bei BÜNNING 1958). Da ihre Phasenlänge etwa 24 Std beträgt, können schon gegen Ende der Nacht die Vorgänge auf „Tag" umgestellt werden, auch wenn noch kein Licht auf die Pflanze fällt und auch, wenn der Tag durch den Experimentator künstlich durch Verdunkelung der Pflanze ausgeschaltet wird.

Einige Versuche an *Ipomoea coccinea*, ebenfalls einer Kurztagpflanze, zeigen, daß in einigen Fällen auch das Sanduhrprinzip bei der photoperiodischen Kontrolle der Blütenbildung verwirklicht sein dürfte. (Dieses Sanduhrprinzip könnte im Falle der Kurztagpflanzen etwa folgendermaßen aussehen: Mit Beginn der Dunkelperiode beginnt ein lichtempfindlicher Vorgang abzulaufen, der nach einer bestimmten Zeit, der kritischen Dunkelperiode, Bedingungen schafft, die die Blütenbildung ermöglichen.)

Material, Methodik

Ipomoea coccinea. Der Samen stammt aus dem Botanischen Garten Tübingen. Er wurde 2 Std mit 60%iger Schwefelsäure behandelt, um die äußere Samenschale zu zerstören und dadurch die Keimung zu erleichtern, anschließend 24 Std in fließendem Leitungswasser gewaschen und gequollen und danach in Blumentöpfe mit Sand

ausgesät (NAKAYAMA 1958). Die Aufzucht erfolgte in Klimakammern mit konstanter Temperatur ($20 \pm 0{,}5^0$ C) und konstanten Lichtverhältnissen: In Pflanzenhöhe 5000 Lux Dauerlicht, hergestellt durch 40-Watt-Leuchtstoffröhren Osram HNT und HNW im Verhältnis 1:1. Am 9. Tage nach der Aussaat sind die beiden Kotyledonen voll entfaltet. Zwischen ihnen wird die Plumula gerade sichtbar.

Die Pflanzen können in diesem Alter durch eine einzige Dunkelperiode genügender Länge zur Anlage von Blütenknospen gebracht werden. Nach der Induktion kamen die Pflanzen ins Gewächshaus (Tageslicht, nachts und in der lichtärmeren Jahreszeit erhielten sie auch vor- und nachmittags Zusatzbeleuchtung mit Leuchtstoffröhren Osram HNT und HNW im Verhältnis 2:1, etwa 600 Lux in Pflanzenhöhe). Die Auswertung erfolgte 3—4 Wochen nach der Dunkelperiodenbehandlung. Als Maß für den Blüheffekt wurde die mittlere Zahl der Blütenknospen am 1.—5. Knoten der Pflanzen einer Gruppe benutzt. Sie läßt sich leicht mit dem Binokular feststellen.

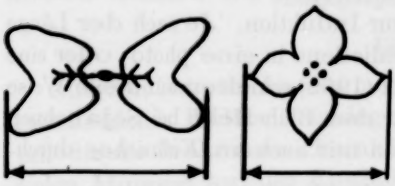

Abb. 1. Links *Ipomoea*-Kotyledonen von oben, $^1/_2$ nat. Größe, rechts *Kalanchoe*-Blüte von oben in geöffnetem Zustand, etwa 3fach vergrößert. Die eingetragenen Pfeile stellen die Meßstrecken dar, die im Binokular aus dem Film ermittelt und als Maß für die Öffnungsweite verwendet wurden

Um festzustellen, ob die Kotyledonen von *Ipomoea* eine tagesperiodische Bewegung zeigen, wurden die Pflanzen von oben mit einer Siemens-Registrierkamera photographiert. Mit Hilfe eines Impulsgebers wurde jede Stunde eine Aufnahme gemacht. Die Belichtung des Filmes erfolgte mit einem Elektronenblitzgerät (Braun Hobby Special), vor dessen Blitzlampe ein BG 18- und ein GG 14-Schottfilter angebracht war. Dieses Sicherheitslicht (MOHR, SCHOSER 1959) besitzt keine Strahlung unter 500 und über 600 nm. Gemessen wurde der Abstand zwischen den Kotyledonenenden des Bildes im Film (Okularmikrometer, Binokular) (Abb. 1).

Kalanchoe bloßfeldiana. Verwendet wurde der Göttinger Stamm. Die Aufzucht erfolgte im Gewächshaus in Blumentöpfen mit leicht humoser, sandiger Erde im Tageslicht mit Zusatzbeleuchtung während der Nacht (wie bei *Ipomoea*). 18 Wochen nach der Aussaat begannen die Versuche [nach HARDER, v. WITSCH (1942) ist *Kalanchoe* in diesem Alter am empfindlichsten für die Kurztaginduktion]. Sie wurden in Klimakammern bei $20 \pm 0{,}5^0$ C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 80 ± 5% durchgeführt (bei den Versuchen mit unterschiedlich langen Dunkelperioden wurde die Luftfeuchtigkeit nicht konstant gehalten). In der Hauptlichtperiode wurden die Pflanzen mit Leuchtstoffröhren (Osram HNT und HNW im Verhältnis 1:1, in Pflanzenhöhe 5000 Lux) bestrahlt. Als Lichtquelle für Hellrot dienten rote Leuchtstoffröhren der Firma Philips (40 Watt TL 15) mit zwei Lagen rotem Dupont-Zellophan. Die spektrale Verteilung dieses Lichtes reicht von 610—700 nm mit einem Maximum bei 655 nm. Wellenlängen unter 610 und über 700 nm fehlen. Als Lichtquelle für Dunkelrot wurde eine Wildermuth-Niedervoltlampe mit Interferenzfilter (733 nm maximale Durchlässigkeit, Halbwertsbreite 12 nm) und Wärmeschutzfilter (KG 1, Firma Schott u. Gen., Mainz) verwendet. Die ausgeleuchtete Kreisfläche hatte einen Durchmesser von 5 cm. Sie reichte nicht aus, um die Pflanzen ganz zu bestrahlen: Die äußeren Teile der älteren Blätter blieben unbestrahlt. Größere Dunkelrotfelder, wie sie mit Infrarotstrahlern und Zellophanfilterkombinationen erzielt werden können (MOHR, SCHOSER 1959), konnten nicht benutzt werden, da Vorversuche zeigten, daß ihr Hellrot-Anteil die Dunkelrotwirkung beeinflußt.

Die Beleuchtungsstärke des Weiß-Lichtes wurde mit einem Luxmeter, die Intensität des Hellrots und Dunkelrots mit einer Thermosäule (Kipp) und einem Multiflex-Galvanometer (Typ MG 0, Lange, Berlin) gemessen. Letzteres wurde an einem geeichten Thermosäule-Galvanometer-System geeicht.

Die Auswertung erfolgte 4 Monate nach Induktionsende. Als Maß für die Induktionsstärke diente die Zahl der Blüten (größere Knospen und geöffnete Blüten) pro Pflanze (x). In den graphischen Darstellungen ist die mittlere Zahl der

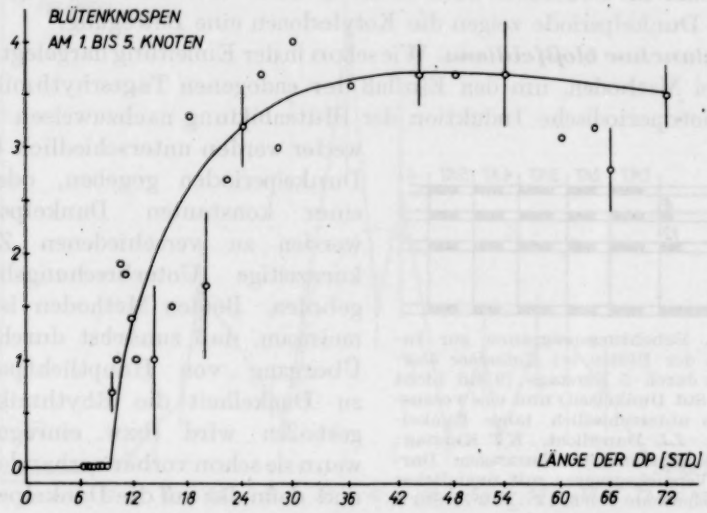

Abb. 2. Abhängigkeit der Blütenbildung von der Länge der Dunkelperiode bei *Ipomoea coccinea*. Ordinate: Zahl der Blütenknospen am 1.—5. Knoten. Abszisse: Länge der Dunkelperiode in Stunden. Die Punkte stellen Mittelwerte von mehreren (3—22, meistens etwa 10) Pflanzen dar. In einigen Fällen sind durch senkrechte Striche die mittleren Fehler angegeben

Blüten pro Versuchsgruppe ($\bar{x}$) und der mittlere Fehler $m = \pm \sqrt{\frac{\sum (x-\bar{x})^2}{n(n-1)}}$ angegeben. Er ist relativ groß, weil die Zahl der Versuchspflanzen (n) aus Platzgründen gering war (4 und 5 Pflanzen pro Gruppe, bei einigen Vorversuchen 10. Die Anzahl der verwendeten Pflanzen pro Gruppe ist bei den graphischen Darstellungen und in der Tabelle angegeben).

Die Blütenblattbewegung wurde wie bei den Kotyledonen von *Ipomoea* mit einer Registrierkamera verfolgt. Dazu wurden Einzelblüten am Stiel unter dem Fruchtknoten abgeschnitten und in Durchbohrungen einer Plexiglasscheibe, die auf Wasser schwamm, gesteckt und von oben photographiert. In der Regel wurde jede Stunde ein Bild gemacht. Belichtung wie bei *Ipomoea*. Die Öffnungsweite der Blüten wurde durch Ausmessung des Abstandes gegenüberliegender Blütenblattzipfel mit einem Okularmikrometer im Binokular aus dem Film ermittelt (Abb. 1).

Versuche und Ergebnisse

Ipomoea coccinea. Die im Dauerlicht angezogenen Pflanzen bekamen am 9. Tag nach der Aussaat eine Dunkelperiode von 6—72 Std. Abb. 2 zeigt die Ergebnisse: Dunkelperioden, die kürzer als 9,5 Std sind, können keine Blütenknospen induzieren. Dunkelperioden über 10 Std haben eine

zunehmende Zahl von Blütenknospen zur Folge, bis bei etwa 30 Std eine obere Grenze erreicht ist. Der leichte Abfall der Kurve bei Dunkelperioden über 50 Std dürfte auf Verarmung an Reservestoffen zurückzuführen sein; die Pflanzen besitzen ja zu Beginn der Dunkelperiode nur die beiden Keimblätter.

Weder im Dauerlicht noch in der in die Dauerbelichtung eingeschobenen Dunkelperiode zeigen die Kotyledonen eine Bewegung.

Kalanchoe bloßfeldiana. Wie schon in der Einleitung dargelegt, gibt es zwei Methoden, um den Einfluß der endogenen Tagesrhythmik auf die photoperiodische Induktion der Blütenbildung nachzuweisen: Entweder werden unterschiedlich lange Dunkelperioden gegeben, oder in einer konstanten Dunkelperiode werden zu verschiedenen Zeiten kurzzeitige Unterbrechungslichter geboten. Beiden Methoden ist gemeinsam, daß zunächst durch den Übergang von Hauptlichtperiode zu Dunkelheit die Rhythmik angestoßen wird (bzw. einreguliert, wenn sie schon vorher vorhanden ist) und dann das auf die Dunkelperiode folgende Hauptlicht oder das in der Dunkelperiode gegebene Störlicht je nach der Phasenlage der Rhythmik einen unterschiedlichen Effekt hat. Der Vorteil der Störlichtmethode ist, daß schon sehr kurze Belichtungen einen starken Effekt zeigen. So besteht die Möglichkeit, mit Hilfe relativ geringer Energien den Einfluß der verschiedenen Spektralbereiche des Lichtes festzustellen. Allerdings besteht immer die Gefahr, daß das Störlicht auch die Rhythmik selbst beeinflußt. Man kann aber an anderen Vorgängen, die ebenfalls von der endogenen Tagesrhythmik beeinflußt werden, prüfen, ob letzteres der Fall ist. Besonders geeignet sind dafür rhythmische Blattbewegungen, bei *Kalanchoe* Bewegungen der Blütenblätter.
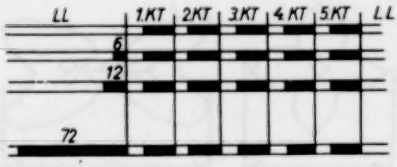
Abb. 3. Belichtungsprogramm zur Induktion der Blüten bei *Kalanchoe bloßfeldiana* durch 5 Kurztage (9 Std Licht und 15 Std Dunkelheit) und eine vorausgehende unterschiedlich lange Dunkelperiode. *LL* Dauerlicht, *KT* Kurztag; oben: Kontrolle mit 5 Kurztagen. Darunter: Versuchsgruppen mit zusätzlicher Dunkelperiode von 6, 12... bis 72 Std

1. Induktion der Blütenbildung durch unterschiedlich lange Dunkelperioden

Die im Dauerlicht aufgezogenen Pflanzen erhielten folgendes Belichtungsprogramm: Die 5 Kontrollgruppen 5 Kurztage (9:15 Std[1]), die Versuchsgruppen *vor* dieser „Grundinduktion" eine zusätzliche Dunkelperiode von unterschiedlicher Länge (Abb. 3). In Abb. 4 ist das Ergebnis dargestellt. Man erkennt, daß die zusätzliche Dunkelperiode einen stärkeren Blüheffekt bewirkt, der in drei Bereichen der Dunkelperiodenlänge besonders groß (um die 24, 39 und 63 Std langen Dunkelperioden

[1] 9 Std Licht, 15 Std Dunkelheit.

herum), in den dazwischenliegenden Bereichen der Dunkelperiodenlänge jedoch relativ gering ist. In die Abb. 4—6 ist der Kurvenverlauf der

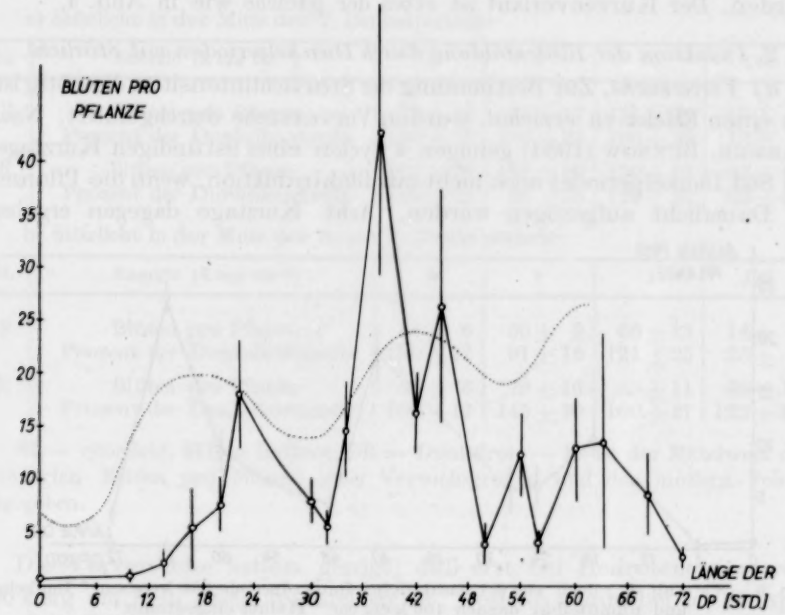

Abb. 4. Induktion der Blütenbildung bei *Kalanchoe* durch unterschiedlich lange Dunkelperioden (Belichtungsprogramm s. Abb. 3). Ordinate: Mittlere Zahl der Blüten pro Pflanze. Abszisse: Länge der zusätzlichen Dunkelperiode in Stunden. Die Punkte stellen Mittelwerte von 5 Pflanzen dar, die senkrechten Striche geben den mittleren Fehler an. Punktiert ist der Verlauf der Blütenblattbewegung aus Abb. 9 eingetragen

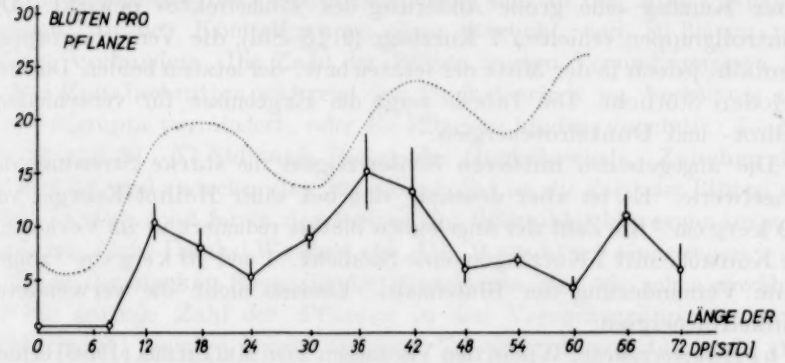

Abb. 5. Wie Abb. 4, jedoch vor der zusätzlichen Dunkelperiode 100 k erg cm^{-2} Dunkelrot eingestrahlt. Mit der 36stündigen Dunkelperiode wurde nur eine Pflanze behandelt

Blütenblattbewegung punktiert eingezeichnet (aus Abb. 9) (siehe Verlauf der Blütenblattbewegung und Diskussion). In Abb. 5 ist die Abhängigkeit des Blüheffektes von der Länge der zusätzlichen Dunkelperiode aufgetragen, wenn vor dieser 100 k erg cm^{-2} Dunkelrot (100 sec

1 k erg cm^{-2} sec^{-1}), in Abb. 6, wenn vor der Dunkelperiode 100 k erg cm^{-2} Dunkelrot und unmittelbar danach 100 k erg cm^{-2} Hellrot eingestrahlt wurden. Der Kurvenverlauf ist etwa der gleiche wie in Abb. 4.

2. Induktion der Blütenbildung durch Dunkelperioden mit Störlicht.

a) Vorversuche. Zur Bestimmung der Störlichtintensität, die nötig ist, um einen Effekt zu erzielen, wurden Vorversuche durchgeführt. Nach HARDER, BÜNSOW (1954) genügen 4 Cyclen eines 9stündigen Kurztages (15 Std Dunkelperiode) noch nicht zur Blühinduktion, wenn die Pflanzen im Dauerlicht aufgezogen wurden. Acht Kurztage dagegen ergeben

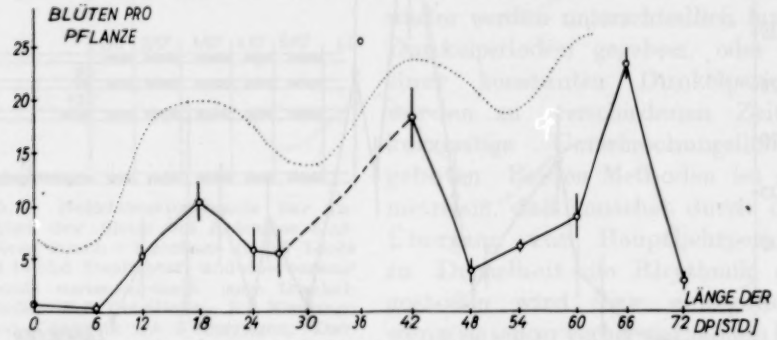

Abb. 6. Wie Abb. 4, jedoch vor der zusätzlichen Dunkelperiode 100 k erg cm^{-2} Dunkelrot und unmittelbar danach 100 k erg cm^{-2} Hellrot eingestrahlt [1]

bereits eine recht starke Induktion (hohe Zahl der angelegten Blüten). Zwischen 4 und 8 Kurztagen liegt also der Bereich, in dem ein zusätzlicher Kurztag eine große Änderung des Blüheffektes bewirkt. Die Kontrollgruppen erhielten 7 Kurztage (9:15 Std), die Versuchsgruppen ebenfalls, jedoch in der Mitte der letzten bzw. der letzten beiden Dunkelperioden Störlicht. Die Tabelle zeigt die Ergebnisse für verschiedene Hellrot- und Dunkelrotenergien.

Die angegebenen mittleren Fehler zeigen die starke Streuung der Einzelwerte. Es ist aber deutlich, daß bei einer Hellrot-Energie von 100 k erg cm^{-2} die Zahl der angelegten Blüten reduziert ist im Verhältnis zur Kontrolle mit 7 Kurztagen ohne Störlicht. 1 und 10 k erg cm^{-2} zeigen keine Verminderung der Blütenzahl. Ebenso nicht die verwendeten Dunkelrotenergien.

b) Hauptversuche. Wie in den Versuchen von MELCHERS (1956) erhielten die Pflanzen in 72-Std-Cyclen eine 10stündige Hauptlichtperiode und in der 62stündigen Dunkelperiode Hellrot- oder Dunkelrot-Störlicht (bei MELCHERS: Weißlicht von Leuchtstoffröhren) zu bestimmten, von Gruppe zu Gruppe verschiedenen Zeiten. Nach 8 solchen Cyclen, also nach 24 Tagen, kamen die Pflanzen wieder in das Dauerlicht des Gewächshauses.

[1] Der 36 Std-Wert stammt von einer einzigen Pflanze, er wurde deshalb nicht mit den Nachbarpunkten verbunden.

Tabelle. *Blüheffekt nach Hellrot- und Dunkelrot-Störlicht in der Mitte der letzten bzw. auch der vorletzten 15stündigen Dunkelperiode bei Kalanchoe. 10 Pflanzen pro Gruppe*

a) Störlicht in der Mitte der 7. Dunkelperiode:

SL	Energie [k erg cm^{-2}]	0	1	10	100
HR	Blüten pro Pflanze	73 ± 13	98 ± 17	131 ± 22	10 ± 2
	Prozent der Dunkelkontrolle	100 ± 19	136 ± 23	180 ± 30	13 ± 3
DR	Blüten pro Pflanze	103 ± 23	91 ± 26	130 ± 21	95 ± 41
	Prozent der Dunkelkontrolle	100 ± 22	88 ± 25	126 ± 21	92 ± 40

b) Störlicht in der Mitte der 6. und 7. Dunkelperiode:

SL	Energie [k erg cm^{-2}]	0	1	10	100
HR	Blüten pro Pflanze	54 ± 6	50 ± 9	66 ± 13	14 ± 3
	Prozent der Dunkelkontrolle	100 ± 12	91 ± 16	121 ± 25	25 ± 6
DR	Blüten pro Pflanze	54 ± 6	79 ± 16	55 ± 11	66 ± 10
	Prozent der Dunkelkontrolle	100 ± 12	145 ± 30	100 ± 21	122 ± 18

SL = Störlicht, HR = Hellrot, DR = Dunkelrot. — Es ist der Mittelwert der angelegten Blüten pro Pflanze einer Versuchsgruppe und der mittlere Fehler angegeben.

Die Vorversuche hatten gezeigt, daß erst bei Hellrotenergien von 100 k erg cm^{-2} ein Effekt feststellbar ist. Deshalb wurde bei den Hauptversuchen eine Energie von 660 k erg cm^{-2} eingestrahlt (2 min lang eine Intensität von 5,5 k erg cm^{-2} sec^{-1}). Die Dunkelrotenergie betrug 180 k erg cm^{-2} (2 min 1,5 k erg cm^{-2} sec^{-1}).

Die Ergebnisse des Hellrot-Störlichtes sind in der Abb. 7 wiedergegeben: In der Kontrollgruppe ohne Störlicht sind 80 Blüten pro Pflanze vorhanden. Die Zahl der Blüten in den Versuchsgruppen ist in drei Zeitabschnitten während der Dunkelperiode im Verhältnis zur Kontrollgruppe vermindert, oder die Pflanzen blieben vegetativ: 3—13, 27—37 und 51—57 Std nach Beginn der Dunkelperiode. Zwischen der 16. und 24. und zwischen der 39. und 44. Std ist die Zahl der Blüten erhöht. In Abb. 7 ist ferner der Verlauf der Blütenblattbewegung im verwendeten Licht-Dunkel-Wechsel aus Abb. 9 punktiert eingetragen.

Trotz der starken Streuung der Einzelwerte, die, wie schon erwähnt auf die geringe Zahl der Pflanzen in den Versuchsgruppen zurückzuführen ist, wurden keine weiteren Versuche durchgeführt, da der Kurvenverlauf mit dem von MELCHERS gefundenen übereinstimmt und da die Versuche mit verschieden langer Dunkelperiode ebenfalls prinzipiell den gleichen Verlauf ergaben.

Die Ergebnisse des Dunkelrot-Störlichtes zeigt Abb. 8: Alle Pflanzen der Versuchsgruppen mit Störlicht von der 0. bis zur 27. Std blieben vegetativ. In den Versuchsgruppen mit Störlicht in der 34. Std und später wurden Blüten angelegt, aber weniger als in der Dunkelkontrolle.

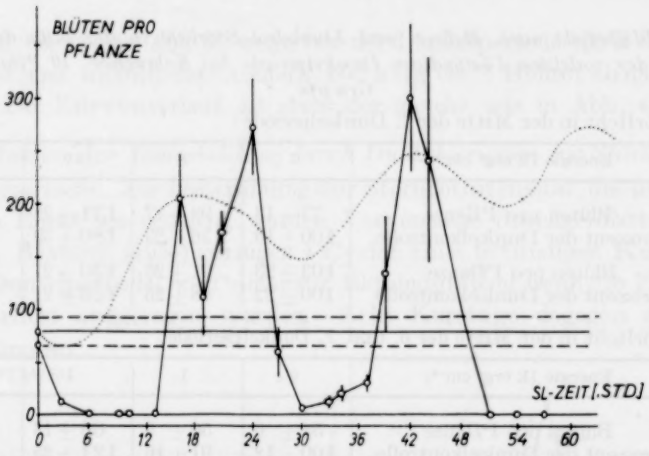

Abb. 7. Abhängigkeit der Blütenbildung vom Zeitpunkt des Hellrot-Störlichtes (660 k erg cm^{-2}) während einer 62stündigen Dunkelperiode bei *Kalanchoe*. Ordinate: Mittlere Zahl der Blüten pro Pflanze. Abszisse: Störlichtzeitpunkt in der Dunkelperiode, die zum Zeitpunkt 0 beginnt und zum Zeitpunkt 62 endet (. Std). Die waagrechte ausgezogene Linie gibt die Zahl der Blüten der Dunkelkontrolle wieder, die gestrichelten parallelen Linien den mittleren Fehler der Dunkelkontrolle. Die Punkte stellen Mittelwerte von je 4 Pflanzen dar, die vertikalen Striche die Größe des mittleren Fehlers. Punktiert ist der Verlauf der Blütenblattbewegung aus Abb. 9 eingetragen

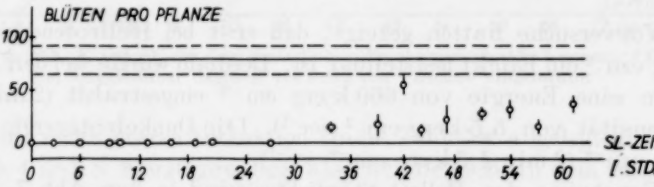

Abb. 8. Abhängigkeit der Blütenbildung vom Zeitpunkt des Dunkelrot-Störlichtes (180 k erg cm^{-2}). Sonst wie Abb. 7

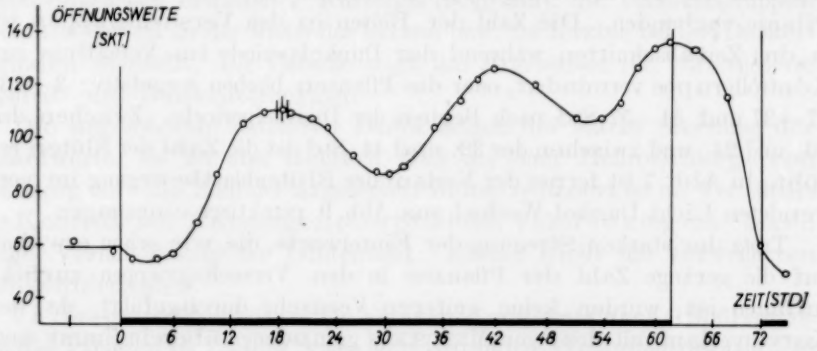

Abb. 9. Blütenblattbewegung bei *Kalanchoe*. Dauerlicht, zum Zeitpunkt 0 Beginn der 62stündigen Dunkelperiode, bis zur 72. Std 10 Std Licht, danach wieder Dunkelheit. Ordinate: Relative Öffnungsweite der Blüten in Skalenteilen. Abszisse: Zeit in Stunden. Jeder Punkt stellt den Mittelwert aus 12 Einzelmessungen dar. Das erste Maximum der Blütenöffnung ist durch einen kurzen senkrechten Strich markiert; die beiden seitlichen Striche geben den mittleren Fehler an (die Einzelwerte wurden aus den Einzelbewegungskurven ermittelt, die hier nicht wiedergegeben sind). Die langen senkrechten Striche sind die Begrenzungen der Licht- und Dunkelperioden

3. Verlauf der Blütenblattbewegung

Abb. 9 veranschaulicht die Blütenblattbewegung im in den Hauptversuchen verwendeten Licht-Dunkel-Wechsel. Die im Gewächshaus aufgewachsenen und durch natürlichen Kurztag induzierten Pflanzen wurden, nachdem genügend viele geöffnete Blüten vorhanden waren, etwa eine Woche im Dauerlicht der Klimakammer gehalten. Während dieser Zeit klingt die Bewegungsrhythmik der Blütenblätter völlig ab. Die Blüten befinden sich im Zustand der Lichtstarre: Sie sind nahezu maximal geschlossen. Die zur Registrierung verwendeten 12 Einzelblüten blieben nach dem Abschneiden noch 6 Std im Licht. Zum Zeitpunkt 0 (Abb. 9) begann die 62stündige Dunkelperiode. Die Blüten

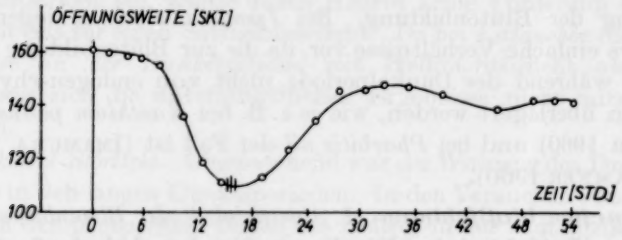

Abb. 10. Blütenblattbewegung bei *Kalanchoe*. 7 Tage Dauerdunkel, ab Zeitpunkt 0 Dauerlicht. Sonst wie Abb. 9, jedoch nur 11 Einzelmessungen für die Mittelwerte und die Markierung des Minimums

schließen sich zunächst noch etwas stärker als im Zustand der Lichtstarre, öffnen sich von der 7. Std ab, um in der 18. Std ein erstes Öffnungsmaximum zu erreichen, schließen sich wieder (Minimum um die 30. Std), erreichen etwa 42 Std nach Dunkelperiodenbeginn ein zweites Öffnungsmaximum, zwischen der 52. und 53. Std ein drittes Minimum und kurz nach Beginn der 10stündigen Lichtperiode (zwischen 62. und 63. Std) ein drittes Maximum. Ein Vergleich mit Abb. 7 zeigt, daß in den Zeitabschnitten starker Öffnung der Blüten Hellrot-Störlicht die Blütenbildung fördert, während in den Zeiten, in denen die Blüten geschlossen sind, Hellrot-Störlicht hemmt.

Um festzustellen, inwieweit auch der Übergang von Dauerdunkel zu Dauerlicht die rhythmische Blütenblattbewegung auslösen kann, wurden blühende Pflanzen 8—10 Tage in Dauerdunkel gebracht (Klimakammer) und dann im Dauerlicht die Bewegung der Blütenblätter registriert. In Abb. 10 sind die Ergebnisse dargestellt. Der Zustand der Dunkelstarre (maximale Öffnung der Blüten, der sich im Dauerdunkel nach etwa 6 Tagen anhaltender Bewegungsrhythmik einstellt, hört 8 Std nach Lichtbeginn auf; die Blüten schließen sich, erreichen zwischen 15. und 16. Std ein Minimum, öffnen sich wieder (Maximum etwa um die 33. Std) und zeigen etwa 46 Std nach Lichtbeginn die Andeutung eines zweiten Minimums.

Hellrot- und Dunkelrot-Störlicht von gleicher Intensität wie die der bei den Blühinduktionsversuchen verwendeten Störlichter haben keinen Einfluß auf den in Abb. 9 dargestellten Verlauf der Blütenblattbewegung.

Diskussion

Ipomoea coccinea. Wie bei *Pharbitis nil* (NAKAYAMA 1958) läßt sich auch bei *Ipomoea coccinea* bereits im Keimlingsstadium die Anlage von Blütenknospen photoperiodisch (besser: dunkelperiodisch) induzieren. Zur Induktion genügt bei beiden Arten eine einzige Dunkelperiode genügender Länge. Diese Eigenschaften machen diese Convolvulaceen zu günstigen Objekten für die Untersuchung der photoperiodischen Auslösung der Blütenbildung. Bei *Ipomoea coccinea* liegen offenbar besonders einfache Verhältnisse vor, da die zur Blütenbildung führenden Prozesse während der Dunkelperiode nicht von endogen-rhythmischen Prozessen überlagert werden, wie es z. B. bei *Xanthium pennsylvanicum* (HAMNER 1960) und bei *Pharbitis nil* der Fall ist (IMAMURA, TAKIMOTO 1955, HAMNER 1960).

Kalanchoe bloßfeldiana. *1. Abhängigkeit der Blütenbildung von der Länge der Dunkelperiode.* Die Kurven in den Abb. 4—6 stimmen in ihrem Verlauf einigermaßen gut mit der von NANDA, HAMNER (1959) angegebenen Kurve für die Abhängigkeit der Blütenbildung von der Länge der Dunkelperiode bei *Glycine max* (Biloxi) überein. Die Versuchsanordnung war dort etwas anders. In einer im Druck befindlichen zusammenfassenden Arbeit von HAMNER (1960) werden weitere Beispiele für Versuche dieser Art gebracht, die alle eine Beeinflussung der Blühinduktion durch endogen-tagesrhythmische Prozesse zeigen (auch bei Langtagpflanzen!).

2. Hellrot-Störlicht. Die Ergebnisse der Hellrot-Störlichtversuche zeigen, daß der den Versuchsergebnissen von MELCHERS (1956) ganz entsprechende Kurvenverlauf, der mit einstündigem Störlicht erhalten wurde, auf dem hohen Hellrot-Anteil der verwendeten weißen Leuchtstoffröhren beruht. Zur Hemmung der Blütenbildung in der skotophilen Phase genügt jedoch schon 2 min Hellrot (5,5 kerg cm^{-2} sec^{-1}). Ebenso genügen bereits 2 min Hellrot, um in der photophilen Phase die Blütenbildung im Verhältnis zur Dunkelkontrolle zu fördern. Es kann sich also nicht um eine Förderung via Photosynthese handeln, wie MELCHERS im Hinblick auf die lange Störlichtzeit vermutet. Hellrot wirkt demnach in der skotophilen Phase hemmend, in der photophilen Phase *fördernd*. Die Hemmwirkung in der mittleren skotophilen Phase ist geringer als in den nach und vor der Hauptlichtperiode liegenden skotophilen Phasen. Sie ist aber ausgeprägter als bei MELCHERS. Unveröffentlichte eigene Versuche mit Hellrot-Dunkelrot- und Dunkelrot-

Hellrot-Störlicht lassen vermuten, daß der (geringe) Dunkelrotanteil des von MELCHERS verwendeten Leuchtstoffröhrenlichtes dafür verantwortlich ist: Wird unmittelbar vor oder nach dem Hellrot-Störlicht in der 30. Std nach Dunkelperiodenbeginn (Maximum der mittleren skotophilen Phase) $^1/_{10}$ der sonst verwendeten Dunkelrotenergie eingestrahlt (18 k erg cm^{-2}), so ist die Hemmwirkung im Vergleich zur Kontrolle gering (60 statt 80 Blüten pro Pflanze). Es ist dabei gleichgültig, ob Dunkelrot *vor* oder *nach* dem Hellrot gegeben wird.

In den Versuchen von KÖNITZ (1958) wirkte Hellrot-Störlicht ebenfalls hemmend in der (durch den Verlauf der Blattbewegung ermittelten) skotophilen Phase. In der photophilen Phase dagegen, die bei KÖNITZ in der Lichtperiode lag, wurde durch Hellrot keine Förderung erreicht. KÖNITZ hält das für einen Sättigungseffekt. Da bei *Kalanchoe* die photophile Phase *in der Dunkelperiode* mit Hellrot-Störlicht abgetastet wurde, lassen sich die unterschiedlichen Ergebnisse nicht miteinander vergleichen.

3. Dunkelrot-Störlicht. Überraschend war die Wirkung des Dunkelrot-Störlichtes in den langen Dunkelperioden. In den Versuchen von KÖNITZ wirkte es in der photophilen Phase wie Hellrot in der skotophilen. Man sollte also bei *Kalanchoe* erwarten, daß Dunkelrot in der photophilen Phase hemmt und in der skotophilen Phase fördert oder wenigstens nicht hemmt. Tatsächlich zeigten auch die Vorversuche, daß Dunkelrot bei den verwendeten Energien (1, 10, 100 k erg cm^{-2}), in der Mitte einer 15stündigen Dunkelperiode gegeben, keine Hemmwirkung hat. In langen Dunkelperioden hemmt es dagegen während der gesamten Dunkelperiode, und zwar besonders stark bis zur 27. Std. Eine ähnliche Dunkelrotwirkung beschreibt NAKAYAMA (1958): Bei *Pharbitis nil* hemmt Dunkelrot die Blütenbildung, wenn es als Störlicht zu Beginn oder während des ersten Teiles der 16stündigen Dunkelperiode gegeben wird.

Der eigenartige Verlauf der Kurve in der Veröffentlichung von NAKAYAMA (1958): zuerst völlige Hemmung, Abnahme der Hemmung bis zur 6. Std der Dunkelperiode, dann wieder Zunahme in der Mitte der Dunkelperiode, schließlich Abnahme — dürfte wohl auf den Hellrotanteil des verwendeten Dunkelrotlichtes zurückzuführen sein. Bei Verwendung „reinen" Dunkelrotes würde wahrscheinlich die zu Beginn der Dunkelperiode 100%ige Hemmung der Blütenbildung allmählich — ohne nochmalige Zunahme der Hemmung durch die in der Mitte der Dunkelperiode besonders starke Hellrot-Hemmwirkung — zurückgehen.

Auch KANDELER fand bei *Lemna gibba*, daß 7 k erg cm^{-2} sec^{-1} Dunkelrot zu Beginn der Dunkelperiode seine größte Störlichtwirkung (nämlich Förderung der Blütenbildung, da Langtagpflanze) hat, die im Verlauf der Dunkelperiode abnimmt.

In beiden Fällen handelt es sich jedoch um 16-stündige Dunkelperioden. Bei *Kalanchoe* hat aber Dunkelrot in 15-stündigen Dunkelperioden keine Wirkung. Der Hemmeffekt des Dunkelrots in sehr langen

Dunkelperioden läßt sich übrigens in den photophilen Phasen durch Hellrot aufheben, wobei es gleichgültig ist, ob Hellrot vor oder nach dem Dunkelrot-Störlicht gegeben wird, wie hier nicht mitgeteilte Vorversuche zeigten. Auch ROLLIN (1958) fand, daß Hellrot zusammen mit Dunkelrot gegeben den Hemmeffekt des Dunkelrots (nämlich Unterdrückung der Samenkeimung von *Phacelia* bei 5° C) mindert. *Kalanchoe* muß für Hellrot sehr empfindlich sein, da Dunkelrotstörlicht mit sehr geringem Hellrotanteil (Zellophanfilter-Infrarotstrahler-Kombination, s. Methodik) seine Hemmwirkung in der photophilen Phase zum Teil verliert.

Das Nachlassen der Dunkelrot-Hemmwirkung von der 27. Std ab ist möglicherweise mit der Translokation verbunden. Nach SALISBURY, BONNER (1956) beginnt bei *Xanthium* der Abtransport des Blühhormons aus den Blättern 22—24 Std nach Beginn der 16stündigen Dunkelperiode. Licht beeinflußt den Transport, denn im Dunkeln beginnt er nach BONNER (1959) erst nach 30 Std. Zu dieser Zeit hört bei *Kalanchoe* auch die Dunkelrotempfindlichkeit auf.

Abb. 8 zeigt, daß späteres Dunkelrot-Störlicht immer noch im Verhältnis zur Dunkelkontrolle hemmt. Das könnte auf Beschädigungen der Blätter in den Versuchsgruppen zurückzuführen sein, die sich nicht ganz vermeiden ließen, wenn die Pflanzen zur Störlichtbestrahlung umgestellt wurden. Die Dunkelkontrollen dagegen blieben während des ganzen Versuches am gleichen Platz.

4. Auslösung und Verlauf der endogenen Tagesrhythmik. Die zeitliche Übereinstimmung des Verlaufs der rhythmischen Blütenblattbewegung mit der Hellrot-Empfindlichkeitsschwankung kann entweder darauf beruhen, daß beide Vorgänge von einem dritten rhythmischen Prozeß abhängen, oder aber — was allerdings unwahrscheinlich ist — darauf, daß jeder der beiden Vorgänge eine eigene Rhythmik besitzt. Die Phasenlänge der einzelnen rhythmischen Prozesse müßte in diesem Falle übereinstimmen und die gleiche Phasenlage dadurch zustande kommen, daß in beiden Fällen die gleichen Faktoren die Rhythmik in Gang setzen.

Wichtigster Auslöser der Rhythmik der Blattbewegung ist der Übergang von Dunkelheit zu Licht (z. B. bei *Phaseolus*, s. LÖRCHER 1957 und WASSERMANN 1959) und der Übergang von Licht zu Dunkelheit (z. B. *Xanthium*, BÜNNING 1954, und *Kalanchoe*, SCHMITZ 1951, BÜNSOW 1953, OLTMANNS 1959). Im Falle von *Kalanchoe* und *Xanthium*, wahrscheinlich auch in vielen anderen Fällen[1], wird beidemal eine rhythmische Bewegung in Gang gesetzt, nur kommt sie bei einer Art des Wechsels stärker zum Ausdruck: Bei *Kalanchoe* und *Xanthium* besonders beim Übergang von Licht zu Dunkelheit (vgl. Abb. 9 und 10!), bei *Phaseolus* beim Übergang von Dunkelheit zu Licht.

Erwähnenswert ist, daß bei einer 10stündigen Hauptlichtperiode, die nach MELCHERS im 72-Std-Cyclus optimal für die Blütenbildung ist, die

[1] Wohl auch bei *Phaseolus*, wie eine Abbildung bei WASSERMANN (1959) (Abb. 10a) vermuten läßt.

ersten Senkungsmaxima der Kurven in Abb. 9 und 10 zusammenfallen: Der Übergang von Dunkelheit zu Licht bewirkt nach etwa 15 Std ein Minimum der Öffnungswerte, der Übergang von Licht zu Dunkelheit nach etwa 5 Std. Wenn die Lichtperiode 10 Std beträgt, fallen also beide Minima zeitlich zusammen. Ob diese Übereinstimmung mit der optimalen Lichtperiodenlänge zufällig ist oder ob die Blüteninduktion dann optimal ist, wenn die durch Dunkelheit-Licht- und Licht-Dunkelheit-Wechsel in Gang gesetzten Phasenabläufe zusammenfallen, bedarf weiterer Untersuchungen.

Es erscheint schwierig, bei Objekten mit enger Verzahnung von Blütenbildungsmechanismus, photoperiodischen Kontrolleinrichtungen und endogener Tagesrhythmik Aussagen über die Art dieser Verzahnung zu machen, solange nicht die Mechanismen selbst aufgeklärt sind.

Summary

A. Ipomoea coccinea. 1. It is possible to induce flowering of this short-day-plant with a single dark period of sufficient length (10 hours) even in the seedling stage.

2. The number of induced flower buds increases with the length of the dark period till an upper limit, which is reached after about 30 hours of darkness.

B. Kalanchoe bloßfeldiana. 1. The flowering effect shows a rhythmical pattern depending upon the length of a dark period, which is given before a basic induction of 5 short days.

2. The flowering effect shows also a rhythmical pattern, if the plants get a red light-interruption (660 k erg cm^{-2}) in a 62-hour-dark period: The flower induction is inhibited in the scotophil phase and promoted in the photophil phase when compared to the dark control (fig. 7).

3. Far red interruptions (180 k erg cm^{-2}) in the first 30 hours of a 62-hour-dark period inhibits the flower induction. Later it decreases the inhibition (fig. 8).

4. The opening and closing movements of the petals under corresponding conditions (as described under 1. und 2.) can be shown to take a course parallel to the rhythmical phenomenon of flower induction by light interruptions.

Herrn Prof. Bünning danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, den Herren Dr. Haupt, Dr. Mohr und Dr. Karvé für Ratschläge und Diskussionen.

Literatur

Bonner, J.: Chemical nature of the inductive processes. In: Photoperiodism in plants and animals. Amer. Ass. Adv. Sci. Washington, p. 411—421, 1959.

Bünning, E.: Die Beziehung einiger photoperiodischer Phänomene bei Soja und *Xanthium* zur endogenen Tagesrhythmik. Ber. dtsch. bot. Ges. **67**, 412—431 (1954).

BÜNNING, E.: Die physiologische Uhr. Heidelberg: Springer 1958.

BÜNNING, E.: Tagesperiodische Bewegungen. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 17, Teil 1, S. 579—656. 1959.

BÜNSOW, R.: Über tages- und jahresrhythmische Änderungen der photoperiodischen Lichtempfindlichkeit bei *Kalanchoe* und ihre Beziehungen zur endogenen Tagesrhythmik. Z. Bot. **41**, 257—276 (1953a).

BÜNSOW, R.: Endogene Tagesrhythmik und Photoperiodismus bei *Kalanchoe bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **42**, 220—252 (1953b).

DOWNS, R. J.: Photoreversibility of flower initiation. Plant Physiol. **31**, 279—284 (1956).

DOWNS, R. J., S. B. HENDRICKS and H. A. BORTHWICK: Photoreversible control of elongation of pinto beans and other plants under normal conditions of growth. Bot. Gaz. **118**, 199—208 (1957).

GALSTON, A. W.: Studies on indoleacetic acid oxidase inhibitor and its relation to photomorphogenesis. In: Photoperiodism in plants and animals. Amer. Ass. Adv. Sci. Washington, p. 137—157, 1959.

GUTTENBERG, H. v., u. K. ZETSCHE: Der Einfluß des Lichtes auf die Auxinbildung und den Auxintransport. Planta (Berl.) **48**, 99—134 (1956).

HAMNER, K. C.: Photoperiodism and circadian rhythms. Cold Spring Harbor-Symposium (1960, im Druck).

HARDER, R., u. R. BÜNSOW: Über die Wirkung der Tageslänge vor der Kurztaginduktion auf die Blütenbildung von *Kalanchoe bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **43**, 315—324 (1954).

HARDER, R., u. H. v. WITSCH: Weitere Untersuchungen über die Veränderung der photoperiodischen Reaktion von *Kalanchoe bloßfeldiana* mit zunehmendem Alter der Pflanzen. Planta (Berl.) **32**, 547—557 (1942).

HAUPT, W.: Die Blütenbildung bei *Pisum sativum*. Z. Bot. **46**, 242—256 (1958).

HENDRICKS, S. B., and H. A. BORTHWICK: Photoperiodism in plants. Proc. 1. Internat. Photobiol. Congr., p. 23—35, 1954.

HENDRICKS, S. B., H. A. BORTHWICK and R. J. DOWNS: Pigment conversion in the formative responses of plants to radiation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **42**, 19—26 (1956).

IMAMURA, S., and A. TAKIMOTO: Photoperiodic responses in Japanese morning glory, *Pharbitis nil* Chois., a sensitive short day plant. Bot. Mag. (Tokyo) **68**, 235—241 (1955).

KANDELER, R.: Über die Blütenbildung bei *Lemna gibba* L. II. Das Wirkungsspektrum von blühförderndem Schwachlicht. Z. Bot. **44**, 153—174 (1956).

KÖNITZ, W.: Blühhemmung bei Kurztagpflanzen durch Hellrot- und Dunkelrotlicht in der photo- und skotophilen Phase. Planta (Berl.) **51**, 1—29 (1958).

LÖRCHER, L.: Die Wirkung verschiedener Lichtqualitäten auf die endogene Tagesrhythmik von *Phaseolus*. Z. Bot. **46**, 209—241 (1958).

MEIJER, G.: The spectral dependence of flowering and elongation. Acta bot. neerl. **8**, 189—246 (1958).

MELCHERS, G.: Die Beteiligung der endonomen Tagesrhythmik am Zustandekommen der photoperiodischen Reaktion der Kurztagpflanze *Kalanchoe bloßfeldiana*. Z. Naturforsch. **11 b**, 544—548 (1956).

MOHR, H.: Der Einfluß monochromatischer Strahlung auf das Längenwachstum des Hypokotyls und auf die Anthocyanbildung bei Keimlingen von *Sinapis alba* L. (= Brassica alba Boiss.). Planta (Berl.) **49**, 389—405 (1957).

MOHR, H., u. G. SCHOSER: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) **53**, 1—17 (1958).

NAKAYAMA, S.: Studies on the dark processes in the photoperiodic responses of *Pharbitis* seedlings. Scien. Rep. Tohoku Univ. **24**, 137—183 (1958).

NANDA, K. K., and K. C. HAMNER: Photoperiodic cycles of different length in relation to flowering in Biloxi soybean (*Glycine max* L.). Planta (Berl.) **53**, 45—52 (1959).

OLTMANNS, O.: Über den Einfluß der Temperatur auf die endogene Rhythmik und die Blühinduktion bei der Kurztagpflanze *Kalanchoe bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **54**, 233—264 (1959).

ROLLIN, P.: Action qualitative de la lumière sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*. C. R. Acad. Sci. (Paris) **247**, 1484 (1958).

SALISBURY, F. B., and J. BONNER: The reactions of the photoinductive dark period. Plant Physiol. **31**, 141—147 (1956).

SCHMITZ, J.: Über Beziehungen zwischen Blütenbildung in verschiedenen Licht-Dunkelkombinationen und Atmungsrhythmik bei wechselnden photoperiodischen Bedingungen. Planta (Berl.) **39**, 271—308 (1951).

TASHIMA, Y.: Ein Beitrag zur Physiologie der Blütenbildung von *Raphanus sativus* mit besonderer Berücksichtigung auf die Vernalisation. Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ. **3**, 25—58 (1957).

TOOLE, E. H., V. K. TOOLE, H. A. BORTHWICK and S. B. HENDRICKS: Photocontrol of *Lepidium* seed germination. Plant Physiol. **30**, 15—21 (1955).

WASSERMANN, L.: Die Auslösung endogen-tagesperiodischer Vorgänge bei Pflanzen durch einmalige Reize. Planta (Berl.) **53**, 647—669 (1959).

WITHROW, R. B.: A kinetic analysis of photoperiodism. In: Photoperiodism in plants and animals. Amer. Ass. Adv. Sci. Washington, p. 439—471 (1959).

Dr. W. ENGELMANN,
Botanisches Institut der Universität, Tübingen, Wilhelmstraße 5

Planta 55, 512—524 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

ÜBER DIE WIRKUNG VON ARSENAT AUF NITRATREDUKTION, ATMUNG UND PHOTOSYNTHESE VON GRÜNALGEN

Von

ERICH KESSLER und WERNER BÜCKER

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. Juli 1960)

I. Einleitung

Unsere Arbeiten über den Mechanismus der Nitratreduktion von Grünalgen hatten ergeben, daß allein die weitere Reduktion des Zwischenproduktes Nitrit durch 2,4-Dinitrophenol (DNP) gehemmt wird, während die Reaktion Nitrat → Nitrit sich als unempfindlich gegen dieses Stoffwechselgift erwies (KESSLER 1953a, 1955, 1959). Biochemische Untersuchungen an zellfreien Enzympräparaten von *Neurospora* (MEDINA u. NICHOLAS 1957; NICHOLAS 1959) und eine Publikation von SUZUKI (1959) über die Nitritreduktion von *Azotobacter* führten zu dem gleichen Resultat. Die Arbeiten zahlreicher Autoren haben gezeigt, daß das DNP spezifisch in das System der Energieübertragung der Zelle eingreift und durch eine Entkopplung der Phosphorylierungen ATP-abhängige Reaktionen verhindert (vgl. SIMON 1953; KESSLER 1955; BRONK u. KIELLEY 1958; dort weitere Literaturangaben). Die Berechtigung der angesichts dieser Befunde naheliegenden Folgerung, daß für die Reduktion von Nitrit energiereiche Phosphatbindungen erforderlich sind, wurde jedoch neuerdings angezweifelt (NASON u. TAKAHASHI 1958). Wir sahen uns deshalb veranlaßt, weitere Untersuchungen zu dieser Frage durchzuführen. Als ein Gift, das ebenfalls ATP-abhängige Reaktionen hemmt, dessen Wirkungsmechanismus bekannt und von demjenigen des DNP in einigen Punkten verschieden ist, bot sich das Arsenat an. Während das DNP und eine Reihe anderer Verbindungen (weitere substituierte Phenole, Azid, Gramicidin, Methylenblau, usw.) auf noch unbekannte Weise die Phosphorylierungen entkoppeln, beruht die Arsenatwirkung auf einer direkten Verdrängung des Phosphats. Die in Gegenwart dieses Giftes gebildeten organischen Arsenatester sind jedoch außerordentlich labil, zerfallen sogleich nach ihrer Entstehung wieder hydrolytisch und sind somit als Energiespeicher und -überträger vollkommen ungeeignet (BRAUNSTEIN 1931; NEEDHAM u. PILLAI 1937; PILLAI 1938; WARBURG u. CHRISTIAN 1939; DOUDOROFF u. Mitarb. 1947; STADTMAN u. Mitarb. 1951; KATZ u. HASSID 1951; BÜCHER u.

Garbade 1952; Crane u. Lipmann 1953). Daher kommt es in Gegenwart von Arsenat zu einer kompetitiven Hemmung der ATP-Bildung und ATP-bedürftiger synthetischer Reaktionen (Reiner 1948; Sussman u. Spiegelman 1950; Bonner 1950; Higinbotham 1959), während die Atmung in den meisten Fällen mehr oder weniger stark gesteigert wird.

Da das Arsenat bei zusammenfassenden Darstellungen (Eberhardt 1952; James 1953) zwar stets als „Atmungsgift" angeführt wird, über seine Wirkung auf den Stoffwechsel von Algen jedoch nur wenig bekannt ist, war es erforderlich, auch den Einfluß dieses Giftes auf die Atmung in unsere Untersuchungen einzubeziehen. Um das Bild von der Arsenatwirkung abzurunden und außerdem weitere Möglichkeiten zum Vergleich mit dem DNP zu haben, wurden auch Messungen der Photosynthese in An- und Abwesenheit von Arsenat durchgeführt.

II. Methodik

Versuchsobjekt war der auch in unseren früheren Untersuchungen über Nitratreduktion (Kessler 1953a, 1955) verwendete Marburger Stamm von *Ankistrodesmus braunii* (Nr. 202—7 C der Sammlung Pringsheim, Göttingen). Für einige Versuche wurde auch die in Marburg isolierte *Chlorella ellipsoidea*, Stamm *St* (Nr. 211—1 D der Sammlung Pringsheim, Göttingen), herangezogen.

Die Algen wurden im allgemeinen in modifizierten Erlenmeyerkolben unter Verwendung der bei Kessler (1953a) angegebenen Nährlösung bei einer Temperatur von etwa 20° C und einer Beleuchtungsstärke von 4000 Lux (Dauerlicht) kultiviert und mit steriler Luft, der etwa 2% CO_2 zugesetzt waren, begast. Lediglich für die in Abschnitt III, 4 beschriebenen Wachstumsmessungen verwendeten wir von unten belüftete Röhren, die sich in einem Lichtthermostaten bei 20° C befanden; auch hier betrug die Beleuchtungsstärke 4000 Lux.

Die manometrischen Stoffwechselmessungen (vgl. Kessler 1953a) erfolgten bei 20° C. Für die Versuche wurden die Algen in Lösungen verschiedener Phosphat- und Nitratkonzentration suspendiert, deren Zusammensetzung im experimentellen Teil jeweils angegeben ist. Alle Versuche wurden bei p_H 4,1 durchgeführt (Einstellung des p_H-Wertes mit verdünnter Schwefelsäure). Die Photosynthese haben wir nach Einleiten von Luft + 5% CO_2 bei etwa 9000 Lux (Lichtsättigung) gemessen. Nitrit wurde mit Griess-Ilosvays Reagens im Pulfrich-Photometer bestimmt (vgl. Kessler 1953a).

Bei Wachstumsmessungen haben wir den Kulturen in regelmäßigen Abständen Proben entnommen. Die Zellzahl wurde unter dem Mikroskop in der Zählkammer nach Thoma, das Trockengewicht in Glasfiltertiegeln mit Asbestauflage ermittelt.

Als Arsenat-Präparat verwendeten wir $Na_2HAsO_4 + 7\ H_2O$ p.a. der Firma Merck, Darmstadt. Die bei den Versuchen zugesetzten Arsenatlösungen wurden jeweils mit Schwefelsäure auf den p_H-Wert der Versuchslösung angesäuert.

III. Experimentelle Ergebnisse

1. Wirkung von Arsenat auf die Atmung

Da es sich bei der Arsenatwirkung um eine typische Verdrängungshemmung handelt, war von vornherein zu erwarten, daß die Wirkung dieses Giftes nicht nur von der Arsenat- sondern in hohem Maße auch

von der Phosphatkonzentration abhängt (vgl. REINER 1948; SUSSMAN u. SPIEGELMAN 1950; BONNER 1950; CRANE u. LIPMANN 1953; KANDLER 1955; HIGINBOTHAM 1959). Unsere ersten, orientierenden Versuche, in Phosphatpuffer (10^{-2} M) durchgeführt, zeigten sogleich, daß unter diesen Bedingungen erst sehr hohe Arsenatkonzentrationen ($> 10^{-2}$ M) zu einem erkennbaren Effekt, und zwar einer Atmungssteigerung, führen. Aus diesem Grunde wurden für die weiteren Versuche die in normalem, phosphathaltigem Medium angezogenen Algen abzentrifugiert und in einer völlig phosphatfreien Nährlösung suspendiert. Um die Möglichkeit einer Nitritanhäufung bei der Nitratreduktion

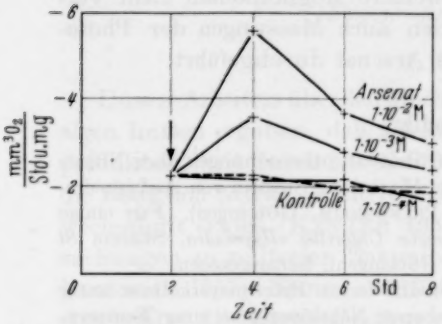

Abb. 1. Wirkung verschiedener Arsenatkonzentrationen auf den respiratorischen O_2-Verbrauch von *Ankistrodesmus braunii* in phosphat- und nitratfreier Nährlösung. pH 4,1. 7,3 mg Trockensubstanz je Gefäß. Zusatz von Arsenat nach 2 Std

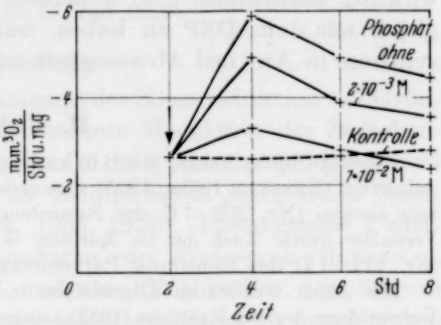

Abb. 2. Wirkung von $1 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat auf den respiratorischen O_2-Verbrauch von *Ankistrodesmus* bei verschiedenen Phosphatkonzentrationen. Kontrolle: Phosphatpuffer (10^{-2} M) ohne Zusatz von Arsenat. pH 4,1. 7,0 mg Trockensubstanz je Gefäß. Zusatz von Arsenat nach 2 Std

und damit verbundene Atmungssteigerungen (KESSLER 1953a, b) auszuschalten, wurde bei allen Versuchen auch das Nitrat der normalen Nährlösung fortgelassen. Untersucht man unter diesen Bedingungen die Wirkung verschiedener Arsenatkonzentrationen auf den respiratorischen Sauerstoffverbrauch von *Ankistrodesmus braunii*, so zeigt sich, daß oberhalb von 10^{-4} M Arsenat eine zunehmende Atmungssteigerung einsetzt (Abb. 1), deren Maximum auch bei der höchsten verwendeten Arsenatkonzentration ($5 \cdot 10^{-2}$ M) noch nicht ganz erreicht wird (vgl. Abb. 3). Eine Atmungs*hemmung* kann also bei *Ankistrodesmus* durch dieses Gift selbst dann nicht hervorgerufen werden, wenn das Arsenat lediglich mit dem von der Anzucht her in den Zellen vorhandenen Phosphat konkurriert.

Abb. 2 gibt einen Versuch wieder, bei dem die gleiche Arsenatmenge Algen in nitratfreien Medien mit verschiedenem Phosphatgehalt zugesetzt wurde. Die relativ hohe Arsenatgabe von 10^{-2} M führt in einer Lösung mit der gleichen Phosphatkonzentration nur zu einer kurz-

fristigen, geringfügigen Atmungssteigerung. Ganz allgemein ist die Arsenatwirkung um so größer, je geringer der Phosphatgehalt ist. Besonders klar geht dieses durchaus den Erfahrungen früherer physiologischer und biochemischer Arbeiten entsprechende Resultat aus der Abb. 3 hervor, welche die Ergebnisse mehrerer Versuche über die Wirkung verschiedener Arsenatkonzentrationen in phosphathaltiger und phosphatfreier Lösung zusammenfaßt.

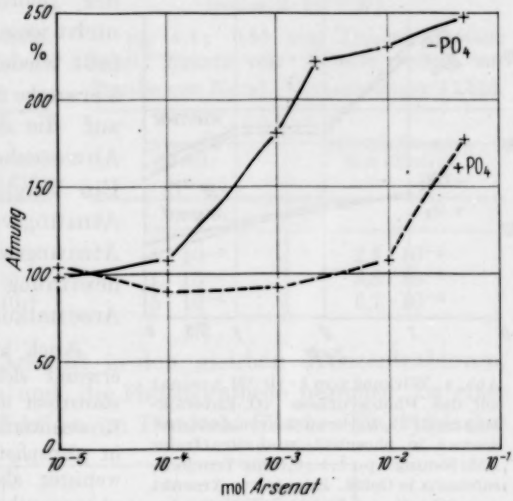

Abb. 3. Atmung von *Ankistrodesmus* in Abhängigkeit von der Arsenatkonzentration in Phosphatpuffer (10^{-2} M) und in phosphatfreier Nährlösung (ohne Nitrat). pH 4,1. Alle Angaben in Prozent der arsenatfreien Kontrollen. Versuchsdauer 6 Std

Erwies sich schon die Atmung von *Ankistrodesmus braunii* als relativ wenig empfindlich gegen Arsenat, so zeigten Versuche mit *Chlorella ellipsoidea*, daß diese auch gegen DNP wesentlich unempfindlichere Alge (Kessler 1955) sogar bei $5 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat in phosphatfreier Nährlösung noch keine Wirkung auf die Atmung erkennen läßt (Tabelle 1).

2. *Wirkung von Arsenat auf die Photosynthese*

Über die Wirkung von Arsenat auf die Photosynthese liegt unseres Wissens nur eine beiläufige Bemerkung von Warburg (1951) vor, daß „eine sehr kleine Menge Arsensäure" die Photosynthese von *Chlorella* reversibel hemmt. Avron u. Jagendorf (1959) und Krogmann u. Mitarb. (1959) fanden darüber hinaus, daß Arsenat zu einer kompetitiven Hemmung der photosynthetischen Phosphorylierung führt.

Tabelle 1. *Wirkung verschiedener Arsenatkonzentrationen auf den respiratorischen O_2-Verbrauch von Chlorella ellipsoidea in phosphat- und nitratfreier Nährlösung*

pH 4,1; 8,1 mg Trockensubstanz je Gefäß. Zusatz von Arsenat nach 2 Std.

Arsenat (Mol/l)	Atmung (mm^3 O_2/Std/mg Trockensubstanz)			
	1. u. 2. Std	3. u. 4. Std	5. u. 6. Std	7. u. 8. Std
—	2,0	1,9	2,1	1,6
$1 \cdot 10^{-3}$	2,0	1,9	2,2	1,9
$1 \cdot 10^{-2}$	2,0	2,0	2,1	1,4
$5 \cdot 10^{-2}$	2,0	2,0	2,1	1,7

Versuche mit *Ankistrodesmus braunii* ergaben, daß in Phosphatpuffer (10^{-2} M) eine nennenswerte Wirkung erst oberhalb von 10^{-2} M Arsenat einsetzt. Arbeitet man in phosphatfreiem Medium, so beginnt

die Verminderung der photosynthetischen Leistung bei 10^{-4} M Arsenat. Einen typischen Versuch gibt Abb. 4 wieder; er zeigt auch, daß CO_2-Verbrauch und O_2-Entwicklung vom Arsenat in gleicher Weise betroffen, der photosynthetische Quotient also nicht wesentlich verändert wird. Abb. 5 faßt wiederum die Ergebnisse mehrerer Versuche über die Wirkung von Arsenat auf die Photosynthese in An- und Abwesenheit von Phosphat zusammen. Ein Vergleich mit den entsprechenden Atmungsversuchen (Abb. 3) zeigt, daß Atmungssteigerung und Photosynthesehemmung jeweils bei den gleichen Arsenatkonzentrationen einsetzen.

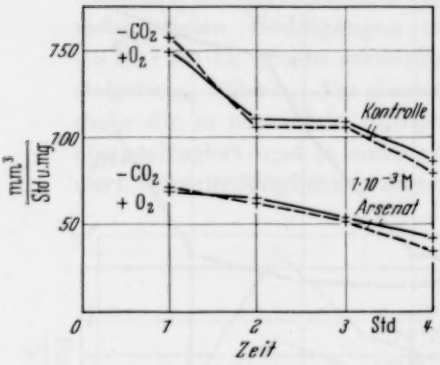

Abb. 4. Wirkung von $1 \cdot 10^{-3}$ M Arsenat auf die Photosynthese (O_2-Entwicklung und CO_2-Verbrauch) von *Ankistrodesmus* in phosphat- und nitratfreier Nährlösung. pH 4,1. 0,9 mg Trockensubstanz je Gefäß. Zusatz von Arsenat 30 min vor Versuchsbeginn

Auch hinsichtlich ihrer Photosynthese erweist sich *Chlorella ellipsoidea* als erstaunlich unempfindlich. Selbst die hohe Konzentration von $5 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat führt in phosphatfreier Nährlösung nur zu einer weniger als 10%igen Verminderung der photosynthetischen Leistung (Tabelle 2).

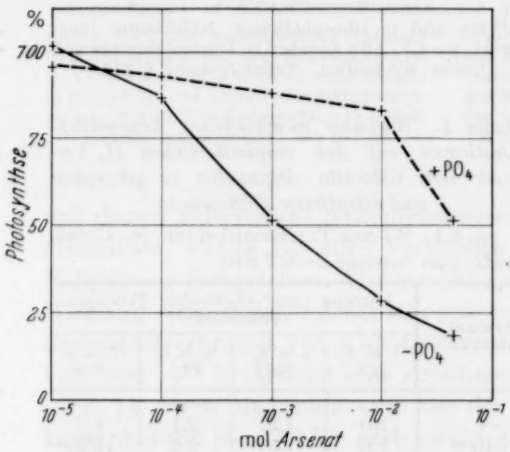

Abb. 5. Photosynthese von *Ankistrodesmus* in Abhängigkeit von der Arsenatkonzentration in Phosphatpuffer (10^{-3} M) und in phosphatfreier Nährlösung (ohne Nitrat). pH 4,1. Alle Angaben in Prozenten der arsenat-freien Kontrollen. Versuchsdauer 4 Std

Tabelle 2. *Wirkung von $5 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat auf die Photosynthese von Chlorella ellipsoidea in phosphat- und nitratfreier Nährlösung*

pH 4,1; 1,5 mg Trockensubstanz je Gefäß. Zusatz von Arsenat 30 min vor Versuchsbeginn.

Arsenat (Mol/l)	Photosynthese (mm^3 O_2/Std/mg Trockensubstanz)		
	1. Std	2. Std	3. Std
—	69	63	61
$5 \cdot 10^{-2}$	65	61	57

3. Wirkung von Arsenat auf die Nitratreduktion

Nachdem der Einfluß des Arsenats auf Atmung und Photosynthese von *Ankistrodesmus braunii* untersucht worden war, konnte das Problem der Wirkung dieses Giftes auf Nitrat- und Nitritreduktion in Angriff genommen werden. Zunächst galt es, entsprechend unseren früheren Versuchen mit DNP (KESSLER 1955), die Wirkung von Arsenat auf die Reduktion von Nitrit zu klären.

Tabelle 3. *Wirkung verschiedener Arsenatkonzentrationen auf die Reduktion von Nitrit durch Ankistrodesmus braunii im Dunkeln in phosphat- und nitratfreier Nährlösung*

p_H 4,1; 0,28 mg Trockensubstanz je ml. Zusatz von Arsenat 30 min vor Nitritzusatz.

Arsenat (Mol/l)	Nitritkonzentration (Mol/l)	
	anfangs	nach 3 Std
—	$6{,}0 \cdot 10^{-5}$	0
$5 \cdot 10^{-3}$	$6{,}0 \cdot 10^{-5}$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$
$1 \cdot 10^{-2}$	$6{,}0 \cdot 10^{-5}$	$2{,}1 \cdot 10^{-5}$
$5 \cdot 10^{-2}$	$6{,}0 \cdot 10^{-5}$	$5{,}4 \cdot 10^{-5}$

Tabelle 4. *Wirkung verschiedener Arsenatkonzentrationen auf die Nitritanhäufung durch Ankistrodesmus im Dunkeln in phosphatfreier Nährlösung (Nitratkonzentration $2 \cdot 10^{-2}$ M)*

p_H 4,1; 0,85 mg Trockensubstanz je ml. Zusatz von Arsenat 1 Std vor Zugabe von Nitrat. Versuchsdauer 11 Std.

Arsenat (Mol/l)	Nitritkonzentration (Mol/l)
—	0
$5 \cdot 10^{-3}$	$2{,}9 \cdot 10^{-5}$
$1 \cdot 10^{-2}$	$3{,}8 \cdot 10^{-5}$
$5 \cdot 10^{-2}$	$6{,}7 \cdot 10^{-5}$

Es ergab sich dabei, daß Arsenat in den gleichen Konzentrationen, welche die Atmung steigern und die Photosynthese hemmen, zu einer Verminderung der Nitritreduktion im Dunkeln führt. Ein typischer

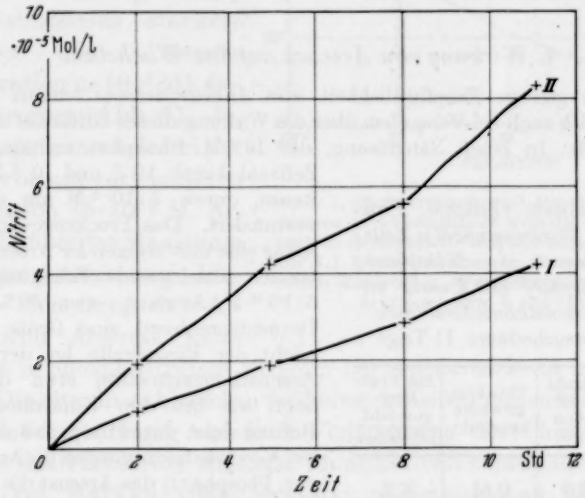

Abb. 6. Nitritanhäufung nach Zusatz von $5 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat durch *Ankistrodesmus* im Dunkeln in phosphatfreier Nährlösung (*I:* Nitratkonzentration $8 \cdot 10^{-3}$ M; *II:* $2 \cdot 10^{-2}$ M). p_H 4,1. 0,75 mg Trockensubstanz je ml. Zusatz von Arsenat 1 Std vor Zugabe von Nitrat

Versuch ist in Tabelle 3 dargestellt; durch $5 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat wird die Nitritreduktion in phosphatfreiem Medium weitgehend, jedoch nicht vollständig gehemmt (vgl. auch Abb. 8).

Arbeitet man mit der gleichen Arsenatkonzentration in nitrathaltiger, phosphatfreier Lösung, so kommt es zu einer Anhäufung von Nitrit. Diese ist um so stärker, je größer die Arsenatkonzentration und damit die Hemmung der weiteren Reduktion des Nitrits ist (Tabelle 4). Der in Abb. 6

dargestellte Versuch zeigt, daß bei gegebener Arsenatkonzentration die Stärke der Nitritanhäufung auch von der Nitratkonzentration abhängt, wie dies nach unseren früheren Erfahrungen (KESSLER 1953a, b, 1955) zu erwarten war. Auch in diesem Punkt entspricht also die Wirkung des Arsenats im wesentlichen derjenigen von DNP (KESSLER 1955). Während die weitere Reduktion des Nitrits durch beide Gifte betroffen wird, ist die Reaktion Nitrat → Nitrit gegen sie unempfindlich. Daß der erste Teilprozeß der Nitratreduktion durch Arsenat nicht gehemmt wird, war auch auf Grund der Ergebnisse von NICHOLAS u. SCAWIN (1956) zu erwarten. Denn diese Autoren hatten gefunden, daß der unspezifische Phosphatbedarf der Nitratreduktase auch durch Arsenat, Tellurat, Selenat, Silicat und Sulfat ganz oder teilweise gedeckt werden kann.

Vergleicht man den zeitlichen Verlauf der Nitritanhäufung nach Arsenatzusatz (Abb. 6) mit der entsprechenden Wirkung des DNP (KESSLER 1955, 1959), so fällt die geringere Intensität der durch Arsenat hervorgerufenen Nitritausscheidung auf. Dies dürfte daran liegen, daß das Arsenat in der von uns angewendeten Konzentration im Gegensatz zum wirksameren DNP die Nitritreduktion nicht vollkommen hemmt.

4. Wirkung von Arsenat auf das Wachstum

Die relativ geringe Empfindlichkeit von *Ankistrodesmus braunii* gegenüber Arsenat zeigt sich auch bei Versuchen über die Wirkung dieses Giftes auf das Wachstum (Tabelle 5). In einer Nährlösung, die 10^{-2} M Phosphat enthält, wird die Zellzahl durch 10^{-3} und 10^{-2} M Arsenat kaum, durch $5 \cdot 10^{-2}$ M um etwa 25% vermindert. Das Trockengewicht erfährt sogar eine mit steigender Arsenatkonzentration zunehmende Erhöhung, die bei $5 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat etwa 50% beträgt. Dementsprechend sind Größe bzw. Gewicht der Einzelzelle bei der höchsten Arsenatkonzentration etwa doppelt so hoch wie bei den Kontrollen. Dieser Befund weist darauf hin, daß unter unseren Versuchsbedingungen (in Anwesenheit von Phosphat!) das Arsenat die Substanzproduktion steigert bei gleichzeitiger Hemmung der Zellteilung.

Tabelle 5. *Wachstum (Zellzahl, Trockengewicht und Trockengewicht je Zelle) von Ankistrodesmus in Nährlösung ($1 \cdot 10^{-2}$ M Phosphat) mit Zusatz verschiedener Arsenatkonzentrationen*

pH 6,5. Versuchsdauer 11 Tage

Arsenat (Mol/l)	Zellzahl ($\times 10^6$ Zellen je ml)	Trockengewicht (mg/ml)	mg Trockengewicht / 10^6 Zellen
—	16,9	0,61	3,6
$1 \cdot 10^{-3}$	15,6	0,70	4,5
$1 \cdot 10^{-2}$	16,3	0,87	5,3
$5 \cdot 10^{-2}$	12,5	0,93	7,4

Auffällig war bei allen Wachstumsversuchen, daß die Kulturen mit $5 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat jeweils zu Anfang vor allem bezüglich der Zellzahl weit unterlegen waren. Erst nach etwa einer Woche setzte dann ein stärkeres Wachstum ein, so daß der Vorsprung der anderen Kulturen in der Zellzahl weitgehend eingeholt, im Trockengewicht sogar übertroffen wurde. Es ist möglich, daß dieses Phänomen auf Adaptationserscheinungen beruht, wie sie bei einzelligen Grünalgen häufiger unter ungünstigen Außenbedingungen beobachtet werden (vgl. KESSLER u. KRAMER 1960).

IV. Diskussion

Um die Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit, die Frage nach der Wirkung von Arsenat auf Nitrat- und Nitritreduktion von *Ankistrodesmus braunii*, lösen zu können, mußte zunächst ganz allgemein der Einfluß dieses Giftes auf den Stoffwechsel untersucht werden. Dies war um so mehr erforderlich, als über die Wirkung von Arsenat auf den Metabolismus von Algen bisher nur sehr wenig bekannt war. Es ergab sich dabei eine relativ geringe Empfindlichkeit von Atmung und Photosynthese gegenüber diesem Stoffwechselgift. In phosphathaltigem Medium (10^{-2} M Phosphat) treten erst bei $> 10^{-2}$ M Arsenat nennenswerte Steigerungen der Atmung und Hemmungen der Photosynthese auf. Nur in phosphatfreier Lösung können bei *Ankistrodesmus* stärkere Wirkungen des Arsenats (Konzentration $> 10^{-4}$ M) beobachtet werden (Abb. 7). Jedoch gelangt man auch bei der höchsten von uns verwendeten Konzentration ($5 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat) nicht über das Maximum der Atmungssteigerung hinaus; eine Hemmung der Atmung durch Arsenat kann also selbst in phosphatfreiem Medium bei *Ankistrodesmus* nicht erreicht werden. Die alte, in zahlreichen früheren Arbeiten gemachte Erfahrung, daß die Arsenatwirkung auf einer Verdrängung des Phosphats beruht und daher das Verhältnis Arsenat: Phosphat von entscheidender Bedeutung ist (vgl. Reiner 1948; Sussman u. Spiegelman 1950; Bonner 1950; Crane u. Lipmann 1953; Kandler 1955; Higinbotham 1959), hat sich somit auch bei unseren Untersuchungen vollauf bestätigt.

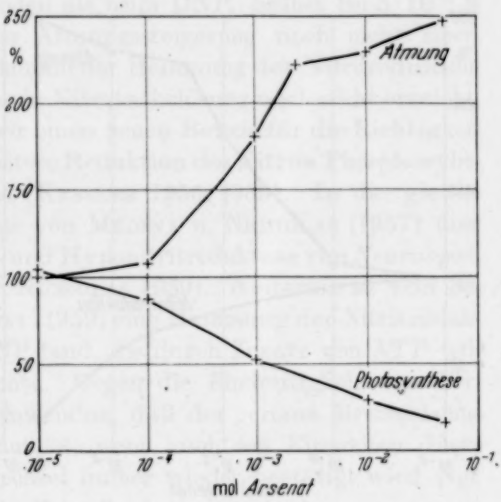

Abb. 7. Photosynthese und Atmung von *Ankistrodesmus* in Abhängigkeit von der Arsenatkonzentration in phosphat- und nitratfreier Nährlösung. pH 4,1. Alle Angaben in Prozent der arsenatfreien Kontrollen. Versuchsdauer 4 Std (Photosynthese) bzw. 6 Std (Atmung)

Auffällig ist die weitgehende Übereinstimmung in den zur Atmungssteigerung und zur Photosynthesehemmung führenden Arsenatkonzentrationen: Die Wirkung des Giftes auf beide Vorgänge setzt bei 10^{-4} M Arsenat in phosphatfreier Nährlösung ein (Abb. 7). Daraus auf einen kausalen Zusammenhang zwischen Atmung und Photosynthese oder gar eine Notwendigkeit der Atmung für die Photosynthese im Sinne von Warburg (1951) zu schließen, erscheint uns jedoch unzulässig. Zu viele

andere experimentelle Befunde sprechen gegen eine solche Beziehung (vgl. KESSLER 1960). Wir sehen in unseren Ergebnissen vielmehr nur einen neuen Beweis für die längst bekannte Beteiligung energiereicher Phosphate an der Photosynthese (Literaturangaben bei ARNON 1956, 1960; SIMONIS 1960). Bemerkenswert ist auch der Befund (Abb. 7), daß bereits bei maximaler Atmungssteigerung durch Arsenat die Photosynthese sehr stark gehemmt ist. Damit erweist sich das Arsenat im Vergleich zum DNP als wirksameres Photosynthesegift; denn YUAN u. DANIELS (1956) und KANDLER (1958) fanden, daß die Hemmung der Photosynthese durch DNP erst bei Konzentrationen einsetzt, welche die Atmung nicht mehr steigern bzw. schon hemmen (vgl. auch HOLZER 1951), während im Bereich maximaler Atmungssteigerung die Photosynthese durch DNP nicht beeinflußt wird. In Übereinstimmung damit steht auch das Ergebnis von KROGMANN u. Mitarb. (1959), daß Arsenat die photosynthetische Phosphorylierung isolierter Chloroplasten hemmt, während DNP sich als unwirksam erwies.

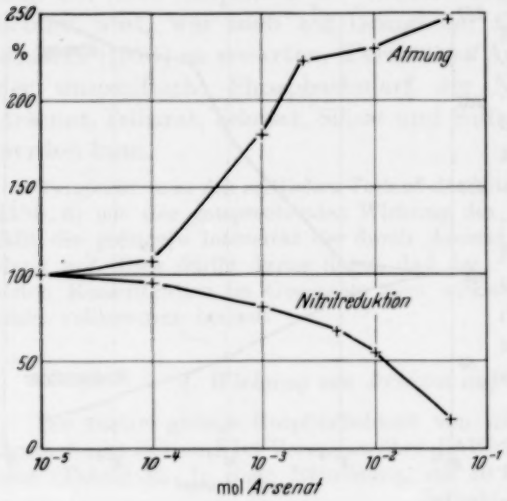

Abb. 8. Nitritreduktion und Atmung von *Ankistrodesmus* in Abhängigkeit von der Arsenatkonzentration in phosphat- und nitratfreier Nährlösung. pH 4,1. Alle Angaben in Prozent der arsenat-freien Kontrollen. Versuchsdauer 1 Std (Nitritreduktion) bzw. 6 Std (Atmung). (Wegen der Schnelligkeit, mit der das zugesetzte Nitrit reduziert wird, kann die Hemmung dieses Vorgangs nur in kurzfristigen Experimenten zuverlässig bestimmt werden. Die beträchtliche Differenz in der Dauer der hier verglichenen Versuche mußte deshalb in Kauf genommen werden)

Im Hinblick auf unsere Fragestellung am bedeutsamsten sind die Befunde über den Einfluß von Arsenat auf die Nitratreduktion. Im gleichen Konzentrationsbereich, in dem die Steigerung der Atmung durch Arsenat beginnt, setzt eine zunehmende Hemmung der Reduktion von Nitrit ein (Abb. 8). Unter den gleichen Bedingungen kommt es in nitrathaltiger Nährlösung zu einer Anhäufung von Nitrit. Der erste Teilvorgang der Nitratreduktion, die Reaktion Nitrat → Nitrit, erweist sich damit auch in vivo, im Gegensatz zur weiteren Reduktion des Nitrits, als unempfindlich gegen Arsenat. Dieser Befund stimmt mit den Resultaten biochemischer Untersuchungen überein; denn NICHOLAS u. SCAWIN (1956) fanden, daß der unspezifische Phosphatbedarf der

Nitratreduktase in vitro unter anderem auch durch Arsenat gedeckt werden kann.

Vergleicht man die hier mitgeteilten Ergebnisse mit unseren früheren Befunden über die Wirkung von DNP auf Nitrat- und Nitritreduktion (KESSLER 1955), so ergibt sich in allen wesentlichen Punkten eine vollkommene qualitative Übereinstimmung. Nur muß man beim Arsenat zur Unterbrechung der Nitratreduktion auf der Nitritstufe wesentlich höhere Konzentrationen anwenden als beim DNP. Selbst bei $5 \cdot 10^{-2}$ M Arsenat ist das Maximum der Atmungssteigerung noch nicht überschritten und der Bereich vollkommener Hemmung der Nitritreduktion und maximaler Nitritanhäufung in Nitratnährlösung noch nicht erreicht.

In diesen Befunden sehen wir einen neuen Beweis für die Richtigkeit unserer Ansicht, daß für die weitere Reduktion des Nitrits Phosphorylierungsvorgänge notwendig sind (KESSLER 1955, 1959). In die gleiche Richtung weisen die Ergebnisse von MEDINA u. NICHOLAS (1957) über die Empfindlichkeit von Nitrit- und Hyponitritreduktase von *Neurospora* in vitro gegen DNP (vgl. auch NICHOLAS 1959). Weiterhin ist von Bedeutung, daß neuerdings SUZUKI (1959) eine Hemmung der Nitritreduktion von *Azotobacter* durch DNP fand, die durch Zusatz von ATP teilweise aufgehoben werden konnte. Gegen die Eindeutigkeit von Versuchen mit DNP mag man einwenden, daß der genaue Mechanismus seiner Wirkung noch unbekannt ist, wenn auch das Eingreifen dieses Giftes in den Phosphatstoffwechsel immer wieder bestätigt wird (vgl. z. B. BRONK u. KIELLEY 1958). Beim Arsenat dagegen hat man bereits detaillierte Vorstellungen über die biochemischen Grundlagen seiner Wirkung. Sie beruht auf einer Verdrängung des Phosphats und schneller Hydrolyse der den organischen Phosphatestern analogen Arsenatverbindungen, die deshalb als Energieüberträger ungeeignet sind (BRAUNSTEIN 1931; NEEDHAM u. PILLAI 1937; PILLAI 1938; WARBURG u.

Tabelle 6. *Durch Arsenat hemmbare energieverbrauchende Prozesse*

	Objekt	Autor
Wachstum	*Avena*-Koleoptile	BONNER (1950)
Ionenaufnahme . . .	Erbse, Kartoffel u. a.; *Crassula* u. a.	HIGINBOTHAM (1959); KYLIN (1960)
Adaptive Enzymbildung	Hefe	REINER (1948); SUSSMAN u. SPIEGELMAN (1950)
Glucoseassimilation . .	Hefe	SUSSMAN u. SPIEGELMAN (1950)
Photosynthese	Grünalgen	WARBURG (1951)
Nitritreduktion . . .	Grünalgen	KESSLER u. BÜCKER
Ammon-Assimilation .	Hefe	REINER (1948); SUSSMAN u. SPIEGELMAN (1950)

CHRISTIAN 1939; DOUDOROFF u. Mitarb. 1947; STADTMAN u. Mitarb. 1951; KATZ u. HASSID 1951; BÜCHER u. GARBADE 1952; CRANE u. LIPMANN 1953).

Abschließend sei noch eine Übersicht über die bisher bekannt gewordenen pflanzenphysiologischen Wirkungen des Arsenats gegeben (Tabelle 6). Daraus geht hervor, daß mehrere von der Energielieferung der aeroben Atmung bzw. dem Funktionieren des ATP-Systems abhängige Reaktionen durch Arsenat gehemmt werden. Wenn diese Liste auch mangels experimenteller Untersuchungen noch nicht sehr umfangreich ist, so zeigt sich doch auch hier eine weitgehende Übereinstimmung zwischen der Wirkung von Arsenat und von DNP (vgl. KESSLER 1955).

Summary

The effect of sodium arsenate on the metabolism of the green alga, *Ankistrodesmus braunii* (strain Marburg) increases with increasing arsenate concentration and with decreasing phosphate concentration. Above 10^{-4} M arsenate, in a phosphate-free medium of pH 4.1, an increase in respiratory oxygen uptake and inhibition of photosynthesis were observed. At the highest concentration used ($5 \cdot 10^{-2}$ M arsenate), the rate of respiration was about 250% of that of the controls, whereas photosynthesis had dropped to about 20% of the normal value. In addition, arsenate was found to be an inhibitor of the reduction of nitrite in the dark, whereas it does not inhibit the first step of nitrate reduction, *i.e.* the reaction nitrate → nitrite. Therefore, in a solution containing nitrate, addition of arsenate leads to accumulation of nitrite. These results further support the assumption, derived previously from experiments with 2,4-dinitrophenol, that the further reduction of nitrite requires high-energy phosphate, in contrast to the first step of nitrate reduction.

Literatur

ARNON, D. I.: Phosphorus metabolism and photosynthesis. Ann. Rev. Plant Physiol. **7**, 325—354 (1956).

ARNON, D. I.: The chloroplast as a functional unit in photosynthesis. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 5/1, S. 773—829. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

AVRON, M., and A. T. JAGENDORF: Evidence concerning the mechanism of adenosine triphosphate formation by spinach chloroplasts. J. biol. Chem. **234**, 967—972 (1959).

BONNER, J.: Arsenate as a selective inhibitor of growth substance action. Plant Physiol. **25**, 181—184 (1950).

BRAUNSTEIN, A. E.: Über den Einfluß von Arsenat auf Phosphatumsatz und Glykolyse im Blut. Biochem. Z. **240**, 68—93 (1931).

BRONK, J. R., and W. W. KIELLEY: Evidence for the point of action of 2,4-dinitrophenol on ATPase, ATP-P^{32} exchange, ATP—ADP^{32} exchange and phosphorylation. Biochim. biophys. Acta **29**, 369—377 (1958).

Bücher, T., u. K.-H. Garbade: Wirkung des oxydierenden Gärungsfermentes in Gegenwart katalytischer Arsenatkonzentrationen. Biochim. biophys. Acta 8, 219—220 (1952).

Crane, R. K., and F. Lipmann: The effect of arsenate on aerobic phosphorylation. J. biol. Chem. **201**, 235—243 (1953).

Doudoroff, M., H. A. Barker and W. Z. Hassid: Studies with bacterial sucrose phosphorylase. III. Arsenolytic decomposition of sucrose and of glucose-1-phosphate. J. biol. Chem. **170**, 147—150 (1947).

Eberhardt, F.: Enzymgifte. Z. Bot. **40**, 332—339 (1952).

Higinbotham, N.: The possible role of adenosine triphosphate in rubidium absorption as revealed by the influence of external phosphate, dinitrophenol and arsenate. Plant Physiol. **34**, 645—650 (1959).

Holzer, H.: Photosynthese und Atmungskettenphosphorylierung. Z. Naturforsch. **6b**, 424—430 (1951).

James, W. O.: The use of respiratory inhibitors. Ann. Rev. Plant Physiol. **4**, 59—90 (1953).

Kandler, O.: Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. III. Hemmungsanalyse der lichtabhängigen Phosphorylierung. Z. Naturforsch. **10b**, 38—46 (1955).

Kandler, O.: The effect of 2,4-dinitrophenol on respiration, oxydative assimilation, and photosynthesis in *Chlorella*. Physiol. Plantarum **11**, 675—684 (1958).

Katz, J., and W. Z. Hassid: Arsenolysis of amylose and amylopectin. Arch. Biochem. **30**, 272—281 (1951).

Kessler, E.: Über den Mechanismus der Nitratreduktion von Grünalgen. I. Nitritbildung und Nitritreduktion durch *Ankistrodesmus braunii* (Nägeli) Brunnthaler. Flora (Jena) **140**, 1—38 (1953a).

Kessler, E.: Über den Mechanismus der Nitratreduktion von Grünalgen. II. Vergleichend-physiologische Untersuchungen. Arch. Mikrobiol. **19**, 438—457 (1953b).

Kessler, E.: Über die Wirkung von 2,4-Dinitrophenol auf Nitratreduktion und Atmung von Grünalgen. Planta (Berl.) **45**, 94—105 (1955).

Kessler, E.: Reduction of nitrate by green algae. Symp. Soc. exp. Biol. **13**, 87—105 (1959).

Kessler, E.: Der Einfluß von Sauerstoff auf die Photosynthese. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 5/1, S. 935—950. 1960.

Kessler, E., u. H. Kramer: Physiologische Untersuchungen an einer ungewöhnlich säureresistenten *Chlorella*. Arch. Mikrobiol. **37**, 245—255 (1960).

Krogmann, D. W., A. T. Jagendorf and M. Avron: Uncouplers of spinach chloroplast photosynthetic phosphorylation. Plant Physiol. **34**, 272—277 (1959).

Kylin, A.: The accumulation of sulphate in isolated leaves as affected by light and darkness. Bot. Not. (Lund) **113**, 49—81 (1960).

Medina, A., and D. J. D. Nicholas: Metallo-enzymes in the reduction of nitrite to ammonia in *Neurospora*. Biochim. biophys. Acta **25**, 138—141 (1957).

Nason, A., and H. Takahashi: Inorganic nitrogen metabolism. Ann. Rev. Microbiol. **12**, 203—246 (1958).

Needham, D. M., and R. K. Pillai: The coupling of oxido-reductions and dismutations with esterification of phosphate in muscle. Biochem. J. **31**, 1837 to 1851 (1937).

Nicholas, D. J. D.: Metallo-enzymes in nitrate assimilation of plants, with special reference to micro-organisms. Symp. Soc. exp. Biol. **13**, 1—23 (1959).

Nicholas, D. J. D., and J. H. Scawin: A phosphate requirement for nitrate reductase from *Neurospora crassa*. Nature (Lond.) **178**, 1474—1475 (1956).

Pillai, R. K.: Action of arsenate in glycolysis. Biochem. J. **32**, 1961—1973 (1938).

Reiner, J. M.: The inhibition of enzyme formation and nitrogen assimilation by arsenate. Arch. Biochem. **19**, 218—228 (1948).

Simon, E. W.: Mechanisms of dinitrophenol toxicity. Biol. Rev. **28**, 453—479 (1953).

Simonis, W.: Photosynthese und lichtabhängige Phosphorylierung. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 5/1, S. 966—1013. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Stadtman, E. R., G. D. Novelli and F. Lipmann: Coenzyme A function in and acetyl transfer by the phosphotransacetylase system. J. biol. Chem. **191**, 365—376 (1951).

Sussman, M., and S. Spiegelman: The use of arsenate in the analysis of energy relations amongst synthetic reactions. Arch. Biochem. **29**, 85—100 (1950).

Suzuki, N.: Metabolism of inorganic nitrogen by *Azotobacter vinelandii*. I. Assimilation of nitrite. Sci. Rep. Tôhoku Univ., Ser. IV **25**, 111—118 (1959).

Warburg, O.: 1-Quanten-Mechanismus der Photosynthese. Z. Elektrochem. **55**, 447—452 (1951).

Warburg, O., u. W. Christian: Isolierung und Kristallisation des Proteins des oxydierenden Gärungsferments. Biochem. Z. **303**, 40—68 (1939).

Yuan, E. L., and F. Daniels: The effects of some inhibitors on the rates of photosynthesis and respiration by *Chlorella*. J. gen. Physiol. **39**, 527—534 (1956).

Dozent Dr. Erich Kessler,
Botanisches Institut der Universität, Marburg a. d. Lahn, Pilgrimstein 4

Planta 55, 525—532 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg

MAGNOGLOBULI IN CHLOROPLASTEN VON *FICUS ELASTICA* ROXB.

Von

HEINZ FALK

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. Juli 1960)

In der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts wurden mehrfach tröpfchenartige, stark lichtbrechende Einschlüsse in Chloroplasten beschrieben (NÄGELI 1858, SACHS 1862, BRIOSI 1873, MEYER 1883), die in jugendlichen Organen selten, in persistierenden Blättern dagegen häufig zu beobachten sind (SCHIMPER 1885). Man hielt sie zufolge ihrer Löslichkeit in Alkohol und Äther für fettartige Substanz, deren Entstehung im Photosyntheseprozeß untersucht und als nicht primär erkannt wurde (GODLEWSKI 1877, HOLLE 1877); lediglich MEYER (1917), der schon früher auf Grund einer Reihe mikrochemischer Reaktionen an ihrer Fettnatur gezweifelt hatte, sprach sie als „Assimilationssekret" — Hexylenaldehyd — an.

Gelegentlich einer zur Zeit laufenden Untersuchung der Feinstruktur von Cystolithen fielen in den Mesophyll-Chloroplasten von *Ficus elastica*, vor allem bei älteren, dunkelgrünen Blättern, tröpfchenförmige farblose Einschlüsse auf, die im Lichtmikroskop eine weitgehende Ähnlichkeit mit den Abbildungen der o. a. Fetttröpfchen aufweisen (Abb. 1c); besonders nach Fixierung mit ALTMANNs Gemisch (1% OsO_4 + 1% $K_2Cr_2O_7$, GRAVE 1954) treten sie deutlich hervor, da sie OsO_4 reduzieren (Abb. 2a, b). In einem Plastiden kommen meist mehrere (2—6) oft unterschiedlich große nebeneinander vor. Die Tröpfchen sind lipophil, erscheinen nach Färbung mit Sudan IV leuchtend rot und erweisen sich im Polarisationsmikroskop als isotrop. Sie besitzen eine schwach goldgelbe, schlecht sichtbare UV-Primärfluorescenz.

Chloroplasten junger Blätter zeigen keine oder nur sehr kleine Tröpfchen, die im Lichtmikroskop gerade erkennbar sind (Abb. 1a, b).

Elektronenoptische Untersuchung: Palade-Fixierung, Methacrylateinbettung; Ultramikrotomie: Reichert-Mikrotom nach H. SITTE; Siemens-Elmiskop I.

Im Elektronenmikroskop treten die tröpfchenförmigen Chloroplasteneinschlüsse sehr deutlich auf Grund ihrer hohen Massendicke hervor, worin sie sich klar von den seltener anzutreffenden Stärkekörnern unterscheiden (Abb. 3). Ihre Größe schwankt zwischen etwa 0,13 μ in jungen und etwa 2,5 μ in alten Blättern (Abb. 1, 4, 5). Von

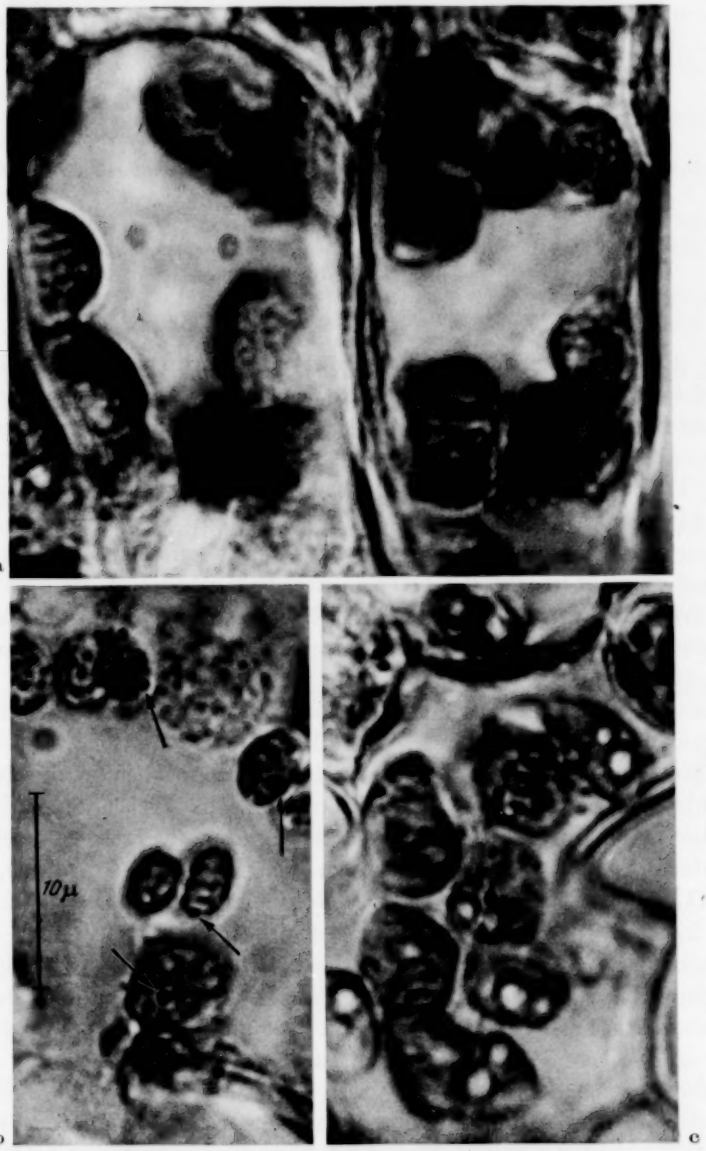

Abb. 1a—c. Mesophyll-Chloroplasten von *Ficus elastica*. Entwicklung der Öltröpfchen (Handschnitte). a keine, b bei ↑ kleine Globuli in jungen Blättern, c Magnoglobuli in älterem Blatt

einem gewissen Durchmesser an (etwa 0,3—0,5 μ) scheinen sie von einer sehr dichten Membran umschlossen, die wohl ein Fixierungsartefakt vorstellt (OsO_2-Niederschlag an der Grenzschicht); auch der weniger

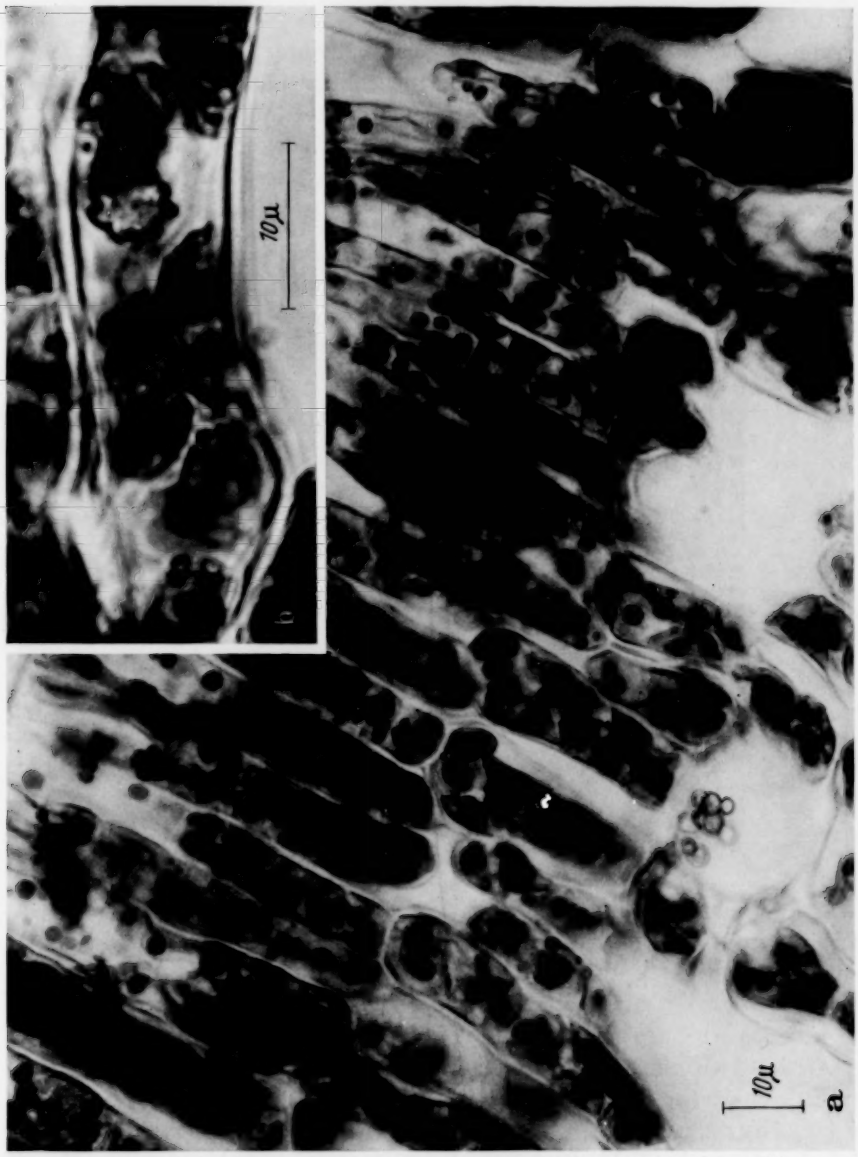

Abb. 2. Palisadenparenchym. Altmann-Fixierung. Magnoglobuli stark osmiophil. (Gefrierschnitt, Kryostat . nach Dittes-Duspiva)

dichte und gekörnt erscheinende Inhalt großer Globuli[1] dürfte auf mangelhafte Durchfixierung zurückzuführen sein. Die Globuli lassen

[1] Es ist wohl zulässig, die hier gefundenen Einschlüsse den allgemein in Plastiden verbreiteten „osmiophilic granules" (Granick 1955) zu subsummieren, für die v. Wettstein (1957) den Terminus „Globuli" vorgeschlagen hat; wenngleich nämlich Globuli auch nur annähernd der Ausmaße wie bei *Ficus* bisher nicht

sich bei *Ficus elastica* ausschließlich im Stroma beobachten[1], besonders deutlich, solange sie noch relativ klein sind; nehmen sie an Größe zu, so werden die ihnen benachbarten Lamellenzüge auseinandergedrängt, auf sich gegenüberliegenden Seiten eines großen Globulus bleiben dann vom Stroma feingranuläre, nichtlamellierte Zwickel übrig (Abb. 6).

Über die chemische Natur der Globuli von *Ficus elastica* kann vorläufig nur gesagt werden, daß sie nach der lichtmikroskopischen Vital-

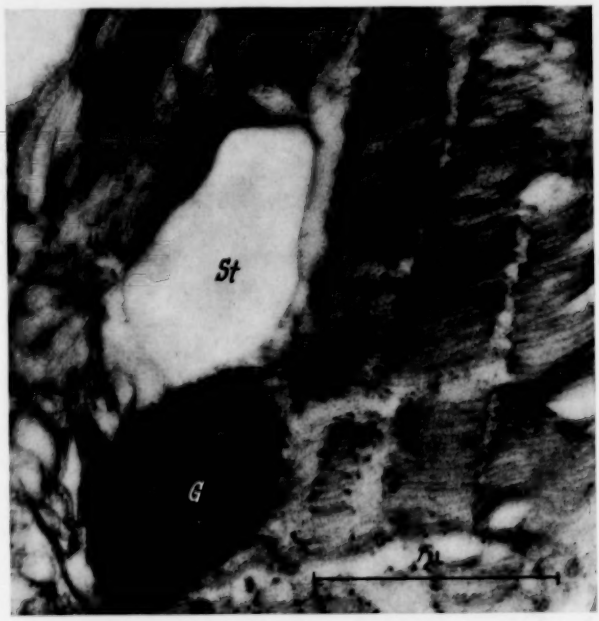

Abb. 3. Ausschnitt aus Chloroplast. Stärkekorn (*St*), Globulus (*G*)

beobachtung nicht als Entmischungsartefakte der Präparation gedeutet werden können; daß es sich um native Entmischungsprodukte handelt, die beim Altern der Plastiden entstehen, ist dagegen nicht ausgeschlossen (vgl. hierzu auch STEFFEN und WALTER 1958). Freilich sind die Lamellen bei *Ficus*-Chloroplasten, auch wenn Magnoglobuli gebildet wurden, immer noch durchgehend gut erhalten (Abb. 5). Schließlich dürfte auch die für Gerstenmutanten gemachte Annahme v. WETTSTEINS (1957), „daß der Überschuß der Pigmente beim Aufbau und der stetigen Erneuerung des Lipochromoproteids in Form der Globuli abgelagert wird", für *Ficus* nicht zutreffen, da sie intra vitam farblos erscheinen und

beschrieben wurden, deuten doch die neben diesen „Magnoglobuli" in Ficus-Chloroplasten auftretenden kleinen und kleinsten Tröpfchen darauf hin, daß hier kein prinzipiell neues Strukturelement vorliegt.

[1] Vgl. dagegen MÜHLETHALER 1955.

Abb. 4. Mesophyll-Chloroplasten eines jungen Blattes. Im feingranulären Stroma einige Globuli. Peristromium deutlich (*P*)

gerade in älteren Plastiden auf rund das 1000fache ihres Volumens anwachsen. Es hat jedenfalls den Anschein, als ob es sich bei den im Elektronenmikroskop gleichartig erscheinenden, osmiumgeschwärzten globulären Chloroplasteneinschlüssen in den einzelnen Fällen doch um recht Verschiedenes handelt.

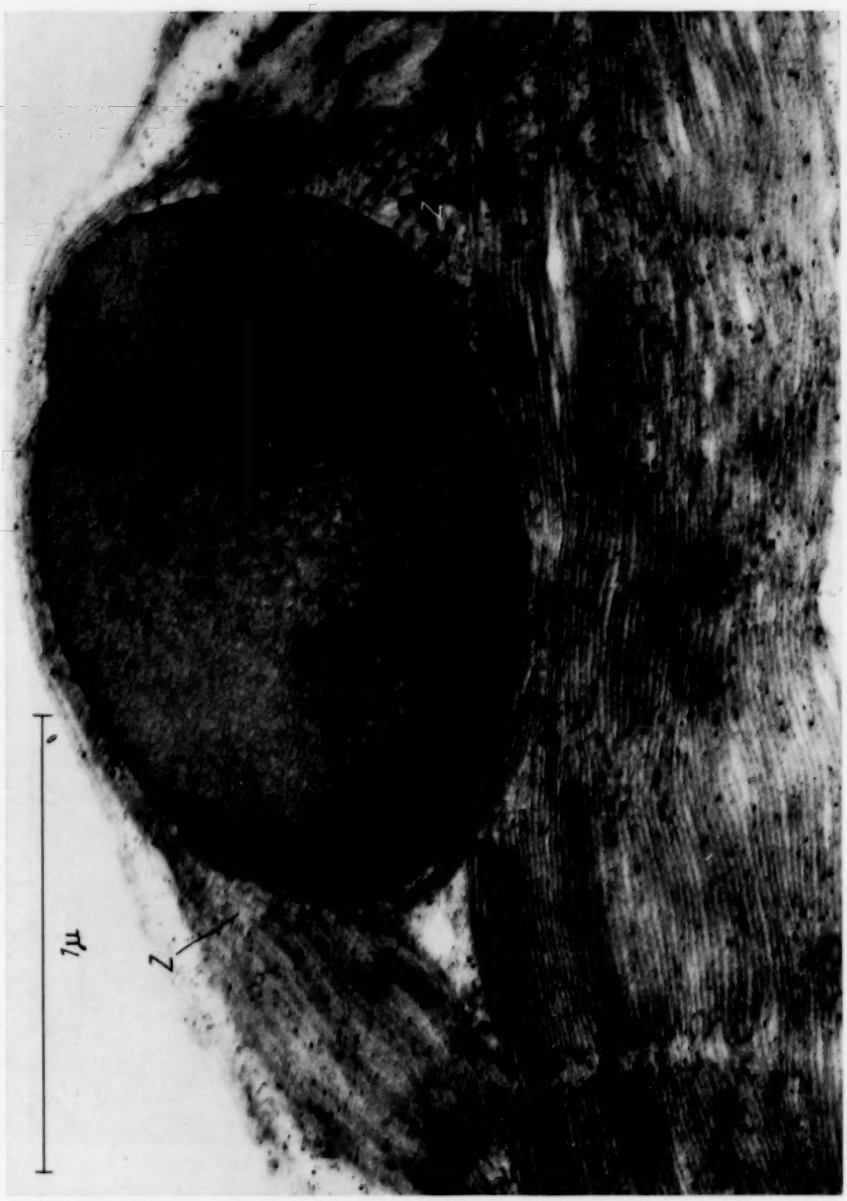

Abb. 5. Ausschnitt aus Chloroplast eines älteren Blattes mit Magnoglobulus. Stromazwickel (Z)

Die bei vorliegender Untersuchung erhaltenen Elektronenmikrogramme entsprechen der zur Zeit herrschenden Vorstellung vom Chloroplasten-Feinbau. Das Peristromium besteht aus einer doppelt-konturierten Membran, der nicht selten innen eine feingranuläre Zone anliegt,

die mit ebensolchen Stromabereichen in Verbindung steht (Abb. 4, *P*). Der Übergang Grana-Stromalamellen folgt dem von Steinmann und Sjöstrand (1955) bei *Aspidistra* gefundenen Modus; die Stromalamellen sind einander oft paarweise genähert.

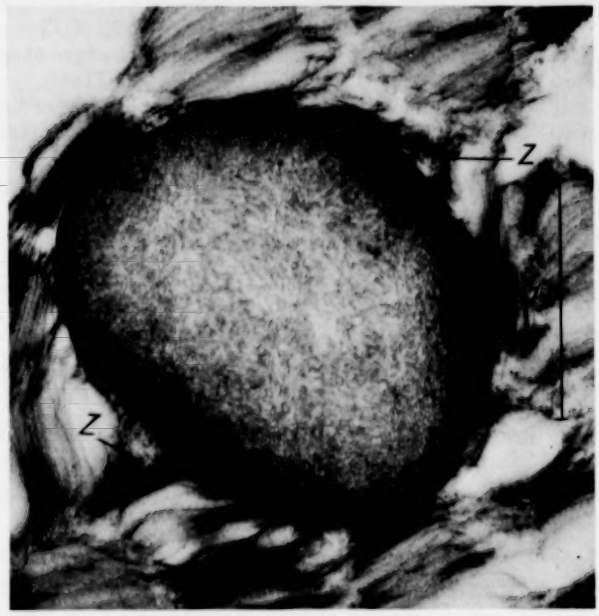

Abb. 6. Magnoglobulus. Grana auseinandergedrängt; feingranuläre Stroma-Zwickel (Z)

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. P. Sitte für manchen wertvollen Hinweis, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre Unterstützung.

Summary

Remarkable, osmiophilic spheres in chloroplasts of Ficus elastica are investigated by light- and electron-microscope and briefly described as "magnoglobuli".

Literatur

Briosi, G.: Über normale Bildung von fettartiger Substanz in Chlorophyll. Bot. Z. **31**,, 529—533, 545—550 (1873).

Godlewski, E.: Ist das Assimilationsprodukt der Musaceen Öl oder Stärke? Flora (Jena) **35**, 215—220 (1877).

Granick, S.: Plastid structure, development and inheritance. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. I, S. 507—564. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

Grave, G.: Studien über die Entwicklung der Chloroplasten bei *Agapanthus umbellatus*. Protoplasma **44**, 273—298 (1954).

Holle, H. G.: Über die Assimilationstätigkeit von *Strelitzia reginae*. Flora (Jena) **35**, 113—120, 154—168, 184—190 (1877).

Meyer, A.: Das Chlorophyllkorn in chemischer, morphologischer und biologischer Beziehung. Leipzig: Felix 1883.

Meyer, A.: Die chemische Zusammensetzung des Assimilationssekretes. Ber. dtsch. bot. Ges. **35**, 674—680 (1917).

Mühlethaler, K.: Untersuchungen über die Struktur und Entwicklung der Proplastiden. Protoplasma **45**, 264—279 (1955).

Nägeli, C.: Die Stärkekörner. Zürich 1858.

Sachs, J.: Übersicht der Ergebnisse der neueren Untersuchungen über das Chlorophyll. Flora (Jena) **20**, 129—137, 161—170, 209—221 (1862).

Schimper, A. F. W.: Untersuchungen über die Chlorophyllkörper und die ihnen homologen Gebilde. Pringsheims Jb. wiss. Bot. **16**, 1—247 (bes. 173—188) (1885).

Steffen, K., u. F. Walter: Die Chromoplasten von *Solanum capsicastrum* L. Planta (Berl.) **50**, 640—670 (1958).

Steinmann, E., u. F. S. Sjöstrand: Ultrastructure of chloroplasts. Exp. Cell. Res. **8**, 15—23 (1955).

Wettstein, D. v.: Genetics and the submicroscopic cytology of plastids. Hereditas (Lund) **43**, 303—317 (1957).

Dr. Heinz Falk,
Botanisches Institut der Universität (EM-Abteilung), Heidelberg,
Hofmeisterweg 4

Planta 55, 533—541 (1960)

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn

ÜBER DIE BEZIEHUNGEN DER EKTODESMEN ZUR STOFFAUFNAHME DURCH BLÄTTER

II. Mitteilung

BEOBACHTUNGEN AN *HELXINE SOLEIROLII* REQ.

Von

WOLFGANG FRANKE

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. August 1960)

I. Einleitung

In der vorangegangenen Mitteilung[1] hatte ich mehrere Befunde über die Stoffaufnahme und Stoffausscheidung durch Blätter mit Beobachtungen über das Vorkommen und die Verteilung von Ektodesmen in Blattepidermen in Beziehung gebracht. Dabei hatte sich ergeben, daß die Aufnahme und Ausscheidung von Wasser und Lösungen durch Blätter unter Überwindung der Cuticula in lokalisierten Bahnen innerhalb der Außenwände der Epidermiszellen erfolgt. Die Orte dieser Transportbahnen stimmen mit denen überein, an welchen Ektodesmen regelmäßig und meist in größerer Anzahl nachzuweisen sind. Unter anderem war eine Beziehung zwischen cuticulärer Transpiration und Ektodesmenvorkommen deutlich geworden, aus der zu schließen ist, daß die Wasserabgabe durch die Cuticula vor allem dort intensiv ist, wo die Epidermisaußenwände von auffallend vielen Ektodesmen durchragt werden, z. B. an den Antiklinen. Nach STRUGGER (1938a, b; 1939b) sollen ferner die Haare und die Cuticularleisten der Schließzellen ebenfalls bevorzugte Orte der cuticulären Transpiration sein, wie er an Zwiebelepidermen, Blättern von *Helxine soleirolii* und anderen Pflanzen zeigte. Zugleich sollen diese Stellen auch für eine Aufnahme von Farbstoffen von der Blattoberfläche her geeignet sein.

In seinen Versuchen mit Fluorescenzfarbstoffen gibt STRUGGER (1938a und b) an, daß die Farbstoffmoleküle in den Membranen der Zellen transportiert würden. Auf Grund seiner Befunde entwickelte er eine Neufassung der Sachsschen Imbibitionstheorie (1938a) und die erweiterte Kohäsionstheorie (1939b), wobei besonders der extrafasciculäre Weg des Wassers erörtert wurde. Ließ er nämlich Sprosse von *Helxine soleirolii* mit der Schnittfläche in eine Berberinsulfatlösung eintauchen, so beobachtete er unter dem Fluorescenzmikroskop, wie die Lösung zunächst in den Leitbündeln aufstieg, dann noch fasciculär in die Blätter gelangte und danach extrafasciculär durch die Zellmembranen in die Parenchyme der Blätter eintrat. Schließlich wanderte der Farbstoff in den Bereich der Epidermis ein, wo in erster

[1] Planta (Berl.) **55**, 390 (1960).

Linie die Cuticularleisten der Stomata aufleuchteten, danach die antiklinalen Wände und die Basen der Haare. STRUGGER führt diese Anfärbung auf den durch cuticuläre Transpiration bedingten Kohäsionszug zurück, wobei der Farbstoff mit den kohärenten Wasserfäden durch die intermicellaren Räume der Membranen der Parenchymzellen transportiert werden soll. An den Endstellen der Kohäsionsfäden in den Organoberflächen, wo das Wasser dampfförmig entweicht, soll sich infolgedessen der Farbstoff konzentrieren und sichtbar aufleuchten. Daß die Transpiration die Farbstoffwanderung entscheidend beeinflußt, konnte er nachweisen.

Abb. 1. *Helxine*-Blattunterseite: Lokalisation der Berberinrhodanid-Kristallausblühungen entlang den Cuticularleisten der Stomata. (Nach STRUGGER 1939b)

Er nahm nun an, daß diejenigen Orte an der Blattoberfläche, an denen sich die cuticuläre Transpiration vollzieht, durch submikroskopische Poren in der Cuticula ausgezeichnet seien. Um das zu prüfen, bewirkte er einen inversen Transpirationsstrom, indem er einen abgeschnittenen *Helxine*sproß mit seiner Spitze unter einem Deckglas in eine Berberinsulfatlösung eintauchen, den übrigen größeren Teil des Sprosses aber samt der Schnittfläche frei transpirieren ließ. Nun konnte er beobachten, daß der Farbstoff tatsächlich von der Oberfläche her ins Gewebe eintrat und schon nach wenigen Minuten zuerst wieder die Cuticularleisten der Stomata aufleuchteten, dann fleckenweise die Antiklinen und die charakteristischen Haarbasen mit den unmittelbar anschließenden antiklinalen Wänden der Epidermiszellen. Später erschien der Farbstoff in den Leitbündeln und verteilte sich dem inversen Transpirationsstrom folgend. Bei der Farbstoffaufnahme ließ sich eine deutliche Bevorzugung entlang der Nervatur erkennen.

Um die mutmaßlichen Poren nachzuweisen, wandte STRUGGER (1939b) eine ebenso großartige wie einfache mikrochemische Methode an. Aus der Tatsache, daß die Berberinsulfatmoleküle von außen in die Blätter eingedrungen waren, folgerte er nämlich, daß die Poren mindestens so groß seien wie die Moleküle selbst. Die letzteren sollten dann auch von innen nach außen gelangen können. Er dachte daher daran, die vermutlich freien, d. h. nicht adsorptiv gebundenen Moleküle durch Osmose von der Blattoberfläche her herauszusaugen. In einer vorausgegangenen Arbeit (1939a) hatte er festgestellt, daß schon kleinste Mengen Berberinsulfat beim Zusammentreffen mit Kaliumrhodanidmolekülen augenblicklich unlösliche Kristalle bilden, die ebenfalls fluorescieren und dadurch sofort nachweisbar sind. So ließ er Helxinesprosse zunächst Berberinsulfat durch die Sproßachse von der Schnittfläche her aufnehmen, bis die Membranen der Blattepidermen gleichmäßig durchgefärbt waren. Dann bestrich er die Blattoberflächen mit einer eben noch flüssigen Gelatine (5%), die als osmotisch saugenden Stoff 0,9 mol

Traubenzucker und zum Berberinsulfatnachweis 0,1 mol KSCN enthielt. Die rasch erstarrende Gelatine sicherte, daß die erwarteten Kristallbildungen sich nicht verlagern konnten.

In der Tat traten Kristallausblühungen an denselben Stellen auf, an denen bei normaler und inverser Transpiration eine Anreicherung des Farbstoffes bis zu starker Fluorescenz erfolgt war. Solche Kristalle erschienen zuerst an den Cuticularleisten (Abb. 1), aber auch über den Rückwänden der Schließzellen, an den basalen Zellen der Drüsenköpfchenhaare und später auch außerhalb der Schließzellen über den periklinalen Membranen der Epidermiszellen.

Nach meinen Untersuchungen an *Plantago major* sind nun gerade diejenigen Blattorte, die für eine Stoffaufnahme oder -abgabe bestimmt zu sein scheinen, durch regelmäßiges und reiches Vorkommen von Ektodesmen gekennzeichnet. Ich habe deshalb die Blätter von *Helxine* auf das Vorkommen von Ektodesmen und deren Lokalisation untersucht, um auch hier eine mutmaßliche Beziehung des Stoffaustausches der Blattepidermen zu diesen Strukturen zu prüfen. Darüber soll im folgenden berichtet werden.

II. Ektodesmenuntersuchungen

a) Methodik und Material

Zum Nachweis der Ektodesmen wurde das Sublimatverfahren nach Lambertz (1954) in der veränderten Form nach Schnepf (1959) verwendet. Das Pflanzenmaterial stammte aus den Gewächshäusern des Landwirtschaftlich-Botanischen Gartens in Bonn.

b) Untersuchungen mit der Sublimatmethode

Gegenüber *Plantago* bieten die hypostomatischen Blättchen von *Helxine* den Vorteil, daß nicht Blattstücke sondern ganze Blätter zur Verwendung kommen. Damit entfällt von vornherein die Möglichkeit, daß die Fixierlösungen etwa durch Wundflächen eindringen (vgl. Franke 1960). Die Lösung muß daher mit Sicherheit von außen durch die Cuticula in die Membran einwandern.

In Querschnittspräparaten so behandelter Blättchen werden regelmäßig zahlreiche Ektodesmen in den Außenwänden sowohl der sehr großzelligen oberen als auch der unteren Epidermis sichtbar (Abb. 2). Wie bei *Plantago* erscheinen sie meist nicht als feine Fäden, sondern stellen keilförmige oder bandförmige Strukturen dar, die in der Regel am Lumen mit einer dunkleren Zone enden. In den Epidermiszellen der Blattspreiten erweitert sich diese dunkle Zone vielfach glockig. Dadurch entstehen die eindrucksvollen und zugleich merkwürdigen pilzförmigen Ektodesmen, die mit der Stielbasis der Cuticula ansitzen und gegen das Lumen zu das Schirmdach entfalten (Abb. 3 und 4). In den Epidermen über und unter den Nerven werden nur stäbchen- oder keilförmige Ektodesmen, aber wie bei *Plantago* stets in sehr großer Anzahl erkennbar. Dasselbe gilt ebenso für die Blattränder von *Helxine*. Regel-

mäßig sind auch an den Schließzellen zahlreiche Ektodesmen zu finden, während in den langen einzelligen, pfriemenförmigen Deckhaaren und den an der Spitze scharf eingekrümmten kürzeren Hakenhaaren keine Ektodesmen wahrzunehmen sind. Die spärlichen Drüsenhaare dagegen,

Abb. 2

Abb. 3

Abb. 2. *Helxine*-Blattquerschnitt: Epidermis der Blattoberseite mit stäbchenförmigen Ektodesmen in den Außenwänden. (Sublimatverfahren, 512mal)

Abb. 3. *Helxine*-Blattquerschnitt: Epidermis der Blattoberseite mit pilzförmigen Ektodesmen in den Außenwänden. (Sublimatverfahren, 640mal)

deren Köpfchen aus vier nebeneinanderstehenden Zellen gebildet werden, enthalten wenigstens in den Stielzellen einige Ektodesmen. Die um diese Köpfchenhaare herum angrenzenden Epidermiszellen sind allgemein reich mit solchen Strukturen ausgerüstet, und auch die die Basen der Deck- und Hakenhaare umgebenden Epidermiszellen weisen oft in unmittelbarer Nachbarschaft zu diesen Haaren mehrere Ektodesmen auf, die zum Teil gegen die Haarbasis gerichtet sind und vereinzelt mit Plasmodesmen dieser Basen kommunizieren (Abb. 4).

Besonders eindrucksvoll sind nun Aufsichtsbilder, die eine Übersicht über die Verteilung der Strukturen gestatten. Wie bei *Plantago* ist zu-

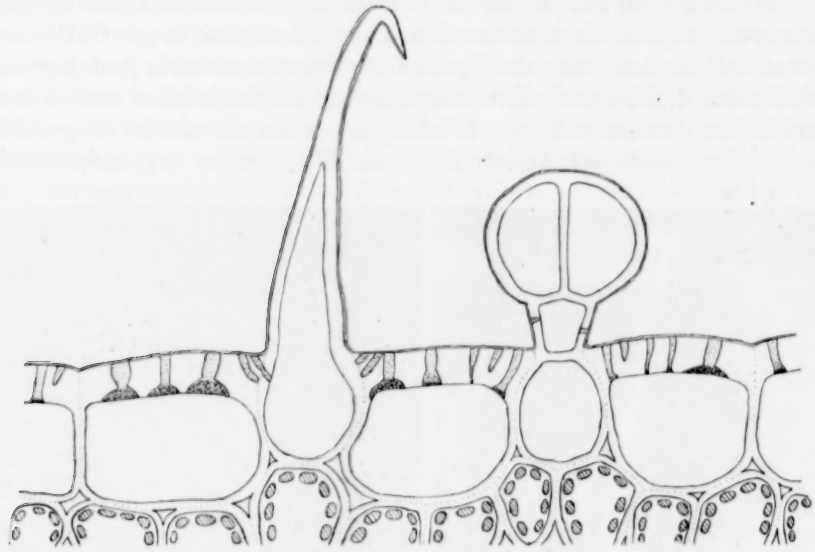

Abb. 4. *Helxine*-Blattquerschnitt: Hakenhaar und Drüsenköpfchenhaar in der oberen Epidermis mit verschiedenen Formen von Ektodesmen. (Halbschematische Darstellung)

nächst festzustellen, daß es oberseits wie unterseits Bezirke gibt, in denen sich die Ektodesmen häufen, manchmal auffallend nur in den Periklinen einzelner Zellen, während sie in anderen Bezirken spärlich vertreten sind oder gänzlich fehlen. Zuweilen werden Ketten gebildet, wobei diese aber nicht wie so oft bei *Plantago* den Antiklinen folgen, sondern über die Zellgrenzen hinweg und mitunter schnurgerade verlaufen. Die stäbchenförmigen Ektodesmen erscheinen in den Aufsichten als Punkte, die pilzförmigen dagegen als unregelmäßige, gekerbte Scheibchen, wobei sich der zentrale Stiel als dunklerer Punkt heraushebt (Abb. 5). Über den in großer Zahl

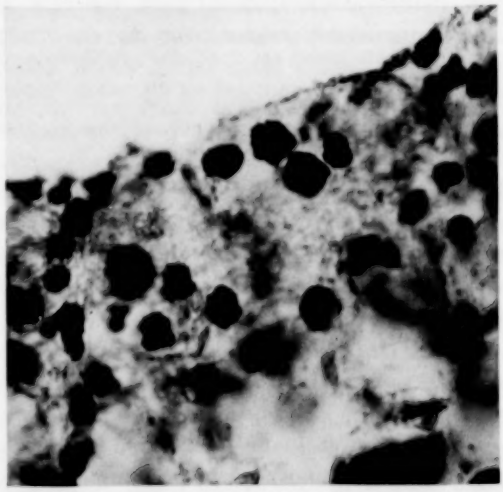

Abb. 5. *Helxine*blatt: Aufsicht auf die obere Epidermis, pilzförmige Ektodesmen. (Sublimatverfahren, 640mal)

auftretenden Cystolithen in den Epidermen beider Blattseiten sind in den Außenwänden meist keine Ektodesmen zu beobachten. Dagegen wird um die nur auf der Blattunterseite vorkommenden Stomata herum eine Massierung von Ektodesmen deutlich. Fast überall sind an den Cuticularleisten und an den Polen der Spalten die Strukturen dicht gedrängt zu sehen (Abb. 6), aber auch über den Schließzellenrückwänden und in den periklinalen Außenwänden der Schließzellen treten sie auf. Im Gegensatz zu *Plantago* finden sich Anordnungen der Ektodesmen zu geschlossenen

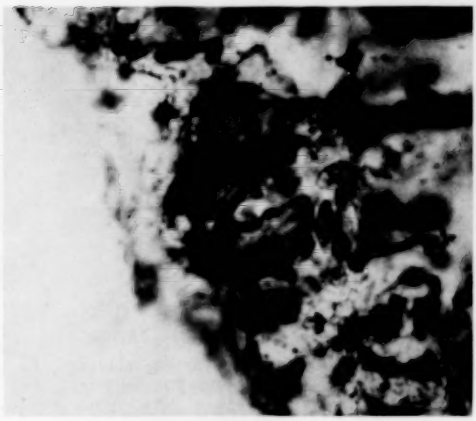

Abb. 6

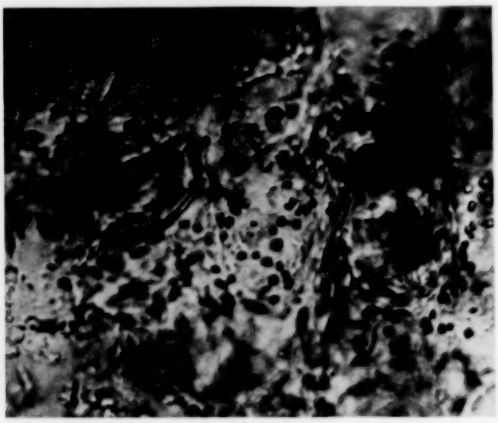

Abb. 7

Abb. 6. *Helxine*blatt: Aufsicht auf die untere Epidermis. Ektodesmen entlang den Cuticularleisten am Spalt einer Schließzelle (Sublimatverfahren, 640mal)

Abb. 7. *Helxine*blatt: Aufsicht auf die untere Epidermis. Substanzablagerungen entlang den Cuticularleisten der Stomata und in den Epidermisaußenwänden um die Schließzellen herum. (Gilsonfixierung ohne Pyoktaninfärbung, 640mal)

Ringen um die Basen der Deck- und Hakenhaare herum nur sehr selten, doch sind meist einige vereinzelte Ektodesmen anzutreffen. Die Blattränder schließlich sind in der Regel tief dunkel gefärbt, und nur zuweilen lassen sich Ektodesmen dicht gedrängt feststellen.

c) Untersuchungen mit Fixiergemisch allein ohne Anfärbung

Wie bei *Plantago* (FRANKE 1960) habe ich auch bei *Helxine* einige Blätter lediglich mit dem Gilsongemisch behandelt und die Anfärbung mit Pyoktanin unterlassen. Dabei entstehen an all den Stellen, wo sonst Ektodesmen nachzuweisen sind, keilförmige Kristalle oder Substanzablagerungen, die auch die gleiche Anordnung wie z. B. an den Cuticularleisten der Stomata (Abb. 7) aufweisen. In den schneidenartig vorspringenden Blatträndern, wo bei normalem Nachweis die starke Färbung die Feststellung der Ektodesmen oft verhindert, sind solche Kristallbildungen in großer Zahl zu beobachten.

III. Diskussion

In der I. Mitteilung hatte ich die Vorstellung vorgetragen, daß die Ektodesmen diejenigen Bahnen sind, in denen sich die Stoffaufnahme und Stoffabgabe in den Epidermisaußenwänden der Blätter zumindest vorwiegend abspielt. In diese Theorie lassen sich nun auch die von STRUGGER in *Helxine*blättern beobachteten Farbstofftransporte von der Blattoberfläche her ins Blattinnere hinein oder aus ihm heraus einreihen. Vergleichen wir nämlich die Angaben STRUGGERs über das Auftreten der Berberinrhodanidkristalle in seinen Versuchen am *Helxine*blatt mit dem Vorkommen und der Verteilung der Ektodesmen in meinen Studien, so sind weitgehende Übereinstimmungen festzustellen. In beiden Fällen treten Kristalle bzw. Ektodesmen an den Cuticularleisten der Stomata deutlich in Erscheinung (vgl. Abb. 1 mit Abb. 6). Auch über den Schließzellenrückwänden sind sie beide zu finden. Die außerhalb der Schließzellen über den Epidermismembranen ausblühenden Kristalle könnten den dort verstreut vorkommenden Ektodesmen entsprechen. An den ektodesmenfreien Deck- und Hakenhaaren konnte STRUGGER auch keine Berberinrhodanidausblühungen beobachten, obzwar sie Berberinsulfat speichern, wohl aber an den Stielzellen der Drüsenköpfchenhaare, die nach meinen Befunden nur dort Ektodesmen enthalten. Ferner erwähnt STRUGGER, daß das Berberinsulfat unter der Wirkung eines inversen Transpirationsstromes fleckenweise von außen her eingedrungen sei. Das deckt sich mit dem fleckenweisen Fehlen bzw. Vorhandensein von Ektodesmen, wie ich es in meinen Präparaten wahrgenommen habe. Andererseits hatte STRUGGER keine Kristallausblühungen über den Antiklinen beobachtet, obwohl sich in ihnen das Berberinsulfat angesammelt hatte. Er berichtet nur, daß sich die Antiklinen während der Saugung ebenso entfärbten wie diejenigen Membranen, über denen Kristalle entstanden. Im Gegensatz zu *Plantago* habe ich bei *Helxine*präparaten in Übereinstimmung mit den Angaben von STRUGGER keine Ansammlung von Ektodesmen entlang den Antiklinen festgestellt. Kurz, wo STRUGGER Berberinrhodanidausblühungen beobachtete, finden sich in meinen Präparaten auch Ektodesmen, wo sie fehlen, gibt er auch keine Kristallbildungen an. Daß die Membranen im Verlaufe des Stoffentzuges durch die osmotisch wirksame Gelatine sich entfärbten, versteht sich. Offenbar wird der Farbstoff in ihnen, wie STRUGGER annimmt, gespeichert und nicht chemisch oder physikalisch gebunden. Der Austritt aus der Membran erfolgt jedoch nur an den Stellen, wo Ektodesmen ihn ermöglichen.

Wenn STRUGGER die gewiß vielfach zutreffende Überzeugung ausspricht (1939 b), daß die lebenden oberirdischen Haare der Stoffaufnahme dienen könnten, so muß für die Haare der *Helxine*blätter festgestellt werden, daß im Gegensatz etwa zu den ektodesmenreichen Kegelhaaren

von *Plantago major* hier diese Möglichkeit höchstens auf die relativ spärlichen Köpfchenhaare beschränkt ist. Daß die Deck- und Hakenhaare Berberinsulfat speichern, ist nicht zu bezweifeln, doch erfolgt die Aufnahme offenbar indirekt, nämlich über die die Haarbasen umgebenden, mit meist mehreren Ektodesmen ausgerüsteten Epidermiszellen.

Eine andere Frage ist, ob die hier dargestellten Befunde die Imbibitionstheorie (STRUGGER 1938a) wenigstens teilweise, d. h. hinsichtlich der Endstrecken der kohärenten Wasserfäden bei der Antiklinentranspiration und damit zugleich der cuticulären Exkretion in Zweifel stellen. Denn wenn die Orte der cuticulären Transpiration mit den Ektodesmen identisch sind, so bedeutet das, daß der Wasseraustritt nicht durch die Membranen als solche erfolgt, sondern durch plasmatische Strukturen hindurch. Die kohärenten Wasserfäden würden nicht durch die intermicellaren Räume der Epidermisaußenwände, sondern durch die Ektodesmen, die Protoplasten und Plasmodesmen der Zellen verlaufen und wären also an das Plasma gebunden. Zwar ließe sich einwenden, daß das Eindringen oder Austreten des Berberinsulfates in oder aus dem Gewebe einerseits auf solche Orte begrenzt sein könnte, wo die für die Molekülgröße geeigneten Poren oder Bahnen bestehen, und daß das Wasser andererseits auch an solchen Stellen entweichen könnte, wo keine Ektodesmen vorhanden sind. Doch müßte sich dann das Berberinsulfat infolge der Heraussaugung des Wassers an diesen Stellen erst recht anreichern und in den Membranen auch erhalten bleiben. STRUGGER gibt aber an, daß sich im Verlaufe der Saugung alle Membranen entfärbten. Das Problem soll an anderem Ort wieder aufgegriffen werden.

Für die Theorie, daß die Ektodesmen als Bahnen für den Stoffaustausch der Blätter durch die Epidermisaußenwände dienen, sind die hier beschriebenen Befunde ein weiterer Wahrscheinlichkeitsbeweis. Sie bestätigen, daß der Stofftransport bei der Stoffaufnahme und -abgabe im Bereiche der Epidermisaußenwände nicht diffus, sondern in distinkten Bahnen abläuft, die allem Anschein nach mit den Ektodesmen identisch sind.

Zusammenfassung

Blätter von *Helxine soleirolii* wurden mit der Sublimatmethode auf das Vorkommen von Ektodesmen geprüft. Ihre Verteilung wird beschrieben und in Beziehung zum Auftreten von Berberinrhodanidkristallen gesetzt, die STRUGGER beim Heraussaugen von Berberinsulfat aus den Epidermiszellen mittels Glucose und KSCN beobachtete. Die Übereinstimmung der Lokalisation der Ektodesmen einerseits und der Kristallausblühungen andererseits wird als ein weiterer Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür angesehen, daß der Stoffaustausch der Blätter über die Epidermisaußenwände in distinkten Bahnen erfolgt, die mit den Ektodesmen identisch sind. Es ergeben sich damit zugleich auch

Zweifel an der Gültigkeit der Imbibitionstheorie für die Wasser- und Stoffbewegung im Bereiche der Blattepidermis.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen und meiner technischen Assistentin, Fräulein Barbara Streitz, für die eifrige Hilfe bei den Untersuchungen herzlich gedankt.

Literatur

Franke, W.: Über Beziehungen der Ektodesmen zur Stoffaufnahme durch Blätter. I. Mitt. Beobachtungen an *Plantago major* L. Planta (Berl.) **55**, 390—423 (1960).

Lambertz, P.: Untersuchungen über das Vorkommen von Plasmodesmen in den Epidermisaußenwänden. Planta (Berl.) **44**, 147—190 (1954).

Schnepf, E.: Untersuchungen über Darstellung und Bau der Ektodesmen und ihre Beeinflußbarkeit durch stoffliche Faktoren. Planta (Berl.) **52**, 644—708 (1959).

Strugger, S.: Fluorescenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben. Flora (Jena) **132**, 253—304 (1938a).

— Die lumiszenzmikroskopische Analyse des Transpirationsstromes in Parenchymen. I. Mitt. Die Methode und die ersten Beobachtungen. Flora (Jena) **133**, 56—68 (1938b).

— II. Mitt. Die Eigenschaften des Berberinsulfates und seine Speicherung durch lebende Zellen. Biol. Zbl. **59**, 274—288 (1939a).

— III. Mitt. Untersuchungen an *Helxine soleirolii* Req. Biol. Zbl. **59**, 409—442 (1939b).

Privatdozent Dr. Wolfgang Franke,
Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn,
Meckenheimer Allee 176

Planta 55, 542—572 (1960)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen

ÜBER DEN EINFLUSS VON GIBBERELLIN AUF DIE PHOTOPERIODISCH BEDINGTEN BLÜHVORGÄNGE BEI *BRYOPHYLLUM**

Von

JÜRGEN PENNER

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. Juli 1960)

Seitdem in den letzten Jahren die Gibberelline das Interesse der Botaniker in zunehmendem Maße gefunden haben, ist eine größere Zahl von Arbeiten erschienen, die über den Einfluß dieser Wirkstoffe auf Entwicklungs- und Wachstumsvorgänge der Pflanzen berichten. Übersichtliche Zusammenstellungen und Referate aller einschlägigen Arbeiten, soweit sie bis zum Jahre 1958 erschienen sind, finden sich bei STODOLA (1958). Die neueste zusammenfassende Darstellung stammt von STOWE und YAMAKI (1959).

Neben einer Reihe anderer Wirkungen haben die Gibberelline auch Einfluß auf *photoperiodisch* bedingte Entwicklungs- und Wachstumsvorgänge der Pflanze. So konnte bei vielen Langtagpflanzen nachgewiesen werden, daß sie im dauernden Kurztag blühen, wenn sie mit Gibberellin behandelt werden, obwohl für sie normalerweise zur Blütenbildung eine Langtagbehandlung unerläßlich ist (BÜNSOW u. HARDER 1956b, 1957; LANG 1956a, 1956b, 1957; LONA 1956; WITTWER u. BUKOVAC 1957a, 1957b). Bei Kurztagpflanzen dagegen konnte durch Gibberellinbehandlung im Langtag niemals Blütenbildung ausgelöst werden (LANG 1956b, 1957; WITTWER u. BUKOVAC 1957a, 1957b). HARDER u. BÜNSOW (1956, 1957, 1958) fanden sogar, daß Gibberellin bei der Kurztagpflanze *Kalanchoë blossfeldiana*, die im Kurztag induziert worden war, die Blütenbildung schwächt. Inzwischen ist für eine Reihe weiterer Langtagpflanzen bestätigt worden, daß sie im Kurztag nach Gibberellinbehandlung Blüten ausbilden, wogegen bei Kurztagpflanzen durch Gibberellinbehandlung im Langtag niemals Blütenbildung ausgelöst werden konnte. Das Gibberellin kann demnach in vielen Fällen eine Langtagwirkung ersetzen, wogegen eine dem Kurztag entsprechende Wirkung auf die Blütenanlegung bisher nicht bekannt geworden ist.

Neben den ausgesprochenen Langtag- und Kurztagpflanzen gibt es eine kleine Gruppe von Arten, die normalerweise nur dann Blüten ausbilden, wenn sie zuerst einer Mindestzahl von Langtagen und anschließend einer Mindestzahl von Kurztagen ausgesetzt waren; im dauernden

* Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen.

Kurztag oder im dauernden Langtag und nach einem Wechsel Kurztag → Langtag bleiben sie vegetativ. Man bezeichnet solche Arten als Lang-Kurztagpflanzen. Zu ihnen gehören auch *Bryophyllum daigremontianum* (R. Hamet et Perrier) Berger (Resende 1953), *Br. crenatum* Bak. (Dostal 1950a) und *Br. tubiflorum* Harv. (= *Br. verticillatum* Scott-Elliot) (Dostal 1950b). Diese Pflanzen schienen besonders geeignet, die Regel von der Langtagwirkung der Gibberelline zu überprüfen und näheren Einblick in deren Wirkungsweise zu erhalten. An den beiden ersten Arten hatten bereits Bünsow und Harder (1956a) zeigen können, daß sie mit Gibberellin sogar in dauerndem Kurztag blühen. Entsprechende Versuche im Langtag hatten aber keine positiven Resultate gezeitigt. Als Fortsetzung dieser Untersuchungen wurden von mir in den Jahren 1957 und 1958 weitere Versuche unternommen, von denen die wichtigsten nachstehend wiedergegeben sind.

Material und Methode

Die zu den Versuchen verwendeten Pflanzen wurden aus Brutknospen von Exemplaren des Botanischen Gartens in Göttingen herangezogen. Dadurch stand ein sehr gleichmäßiges Pflanzenmaterial zur Verfügung. Die Anzucht der Pflanzen und die Durchführung der Versuche erfolgten in Gewächshäusern. Sätze gleich alter Versuchspflanzen wurden vom Pikieren an (teilweise schon vom Auslegen der Brutknospen an) unter strengen Kurztag- bzw. Langtagbedingungen aufgezogen. Während der Kurztage wurden die Pflanzen von 7 bis 16 Uhr dem natürlichen Tageslicht ausgesetzt. Als Langtag war in den Monaten Juni und Juli die natürliche Tageslänge wirksam, von August bis Mai wurde von 0 bis 2 Uhr Störlicht von einigen hundert Lux gegeben. Versuchspflanzen, die ständig in einer der beiden Tageslängen wuchsen, blieben ohne Ausnahme vegetativ.

Während *Br. crenatum* und *Br. tubiflorum* schon nach wenigen Monaten blühreif sind, d. h. auf den Wechsel Langtag → Kurztag mit Blütenbildung reagieren, geschieht das bei *Br. daigremontianum* erst im zweiten Jahr. Daher wurden bei dieser Art auch mit nichtblühreifen Exemplaren Versuche durchgeführt.

Für die Versuche wurde anfangs ein Gemisch aus Gibberellinsäure und Gibberellin A_1, später reine Gibberellinsäure verwendet, doch wurden keine Unterschiede in der Wirkung festgestellt. Die erforderliche Gibberellinmenge wurde in wenigen Tropfen Äthanol gelöst und mit Aqua bidest. bis zur erforderlichen Konzentration verdünnt. Sollte die Lösung auf die Blätter oder auf den Vegetationspunkt getropft werden, wurde das Netzmittel Erkantol der Farbenfabriken Bayer, Leverkusen, zugesetzt. Die Kontrollpflanzen wurden mit Aqua bidest., dem die gleiche Menge Alkohol und Erkantol zugesetzt worden war, behandelt. Die Lösungen wurden entweder aus einer Pipette auf die Blätter oder den Vegetationspunkt getropft oder in die Unterseite der Blätter in die Nähe der Mittelrippe injiziert. Ein Tropfen Gibberellinlösung enthielt rund 0,025 cm^3.

Die statistische Beurteilung der Ergebnisse wurde nach Pätau (1943) vorgenommen.

Folgende *Abkürzungen* werden verwendet: LT = Langtag; KT = Kurztag; LT-Exemplare = Pflanzen, die bis zum Versuchsbeginn unter Langtagbedingungen aufgezogen worden waren; KT-Exemplare = Pflanzen, die bis zum Versuchsbeginn im Kurztag herangezogen worden waren; *Br.* = *Bryophyllum;* Gibb. = Gibberellin.

A. Versuche mit voll beblätterten Pflanzen

I. Versuche mit blühreifen Pflanzen. *Versuch 1.* Blütenbildung bei KT- und LT-Exemplaren von *Br. crenatum* und *Br. tubiflorum* in Abhängigkeit von Dauer und Stärke der Gibb.-Behandlung im KT.

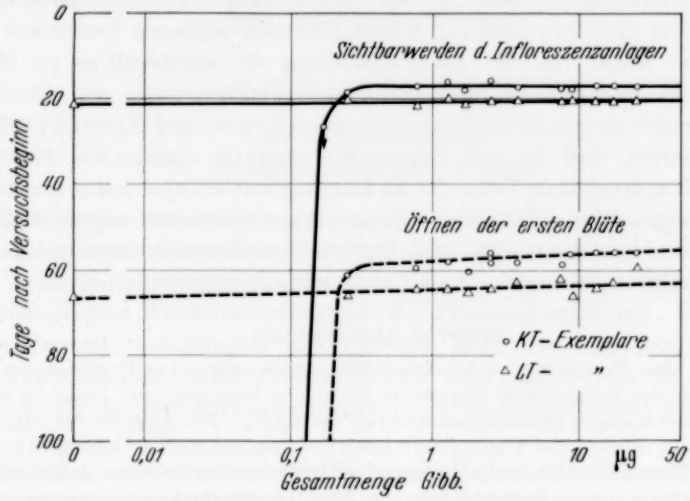

Abb. 1. Wirkung der Gibberellin-Menge auf die Zeit bis zum Sichtbarwerden der Infloreszenzanlage und bis zum Öffnen der ersten Blüte bei Langtag- und bei Kurztagexemplaren von *Bryophyllum crenatum* im Kurztag

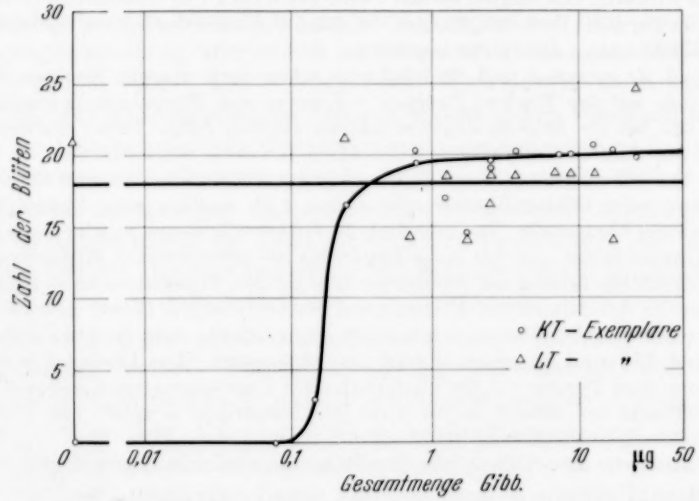

Abb. 2. Wirkung der Gibberellin-Menge auf die Anzahl der Blüten bei Langtag- und bei Kurztagexemplaren von *Bryophyllum crenatum* im Kurztag

KT- und LT-Exemplare von *Br. crenatum* und KT-Exemplare von *Br. tubiflorum*, alle 7 Monate alt, wurden in Gruppen von je drei bzw.

zehn Pflanzen unter KT-Bedingungen mit Gibb. behandelt. Das Gibb. wurde in Lösungen von 10 bis 100 mg/l an ein bis zehn aufeinanderfolgenden Tagen auf die Vegetationspunkte getropft. Die Pflanzen blieben während des ganzen Versuches im KT.

Die LT-Exemplare von *Br. crenatum* waren mit 7 Monaten schon blühreif und bildeten auch ohne Gibb. normale Blütenstände aus. Der durch das Umstellen in den KT bewirkte Blühimpuls wurde durch Gibb. nicht beeinflußt oder nur relativ wenig gesteigert, in keinem Fall gehemmt (Abb. 1 und 2).

Die KT-Exemplare von *Br. crenatum* ohne Gibb. zeigten den typischen KT-Habitus mit stark gestauchten Internodien, und die unbehandelten Pflanzen blieben ohne Ausnahme vegetativ. Bei den mit Gibb. behandelten KT-Exemplaren erfolgte dagegen schon wenige Tage nach Versuchsbeginn eine starke Streckung der obersten Internodien, und bald darauf wurden Inflorescenzanlagen sichtbar, die sich alle zu normalen Blütenständen entwickelten. Doch erfolgte die Blütenbildung durch 0,25 bis 25,0 μ g Gibb. je Pflanze weitgehend unabhängig von der Gibb.-Menge und von der Dauer der Behandlung.

Die Gibb.-Mindestmenge, die gerade noch Blütenbildung auslöst, konnte durch einen Ergänzungsversuch mit 4 Gruppen zu je 4 KT-Exemplaren ermittelt werden. Die Pflanzen erhielten an drei aufeinanderfolgenden Tagen je einen Tropfen Gibb.-Lösung mit 1 bis 10 mg/l (Tabelle 1). Mit 0,75 μg bildeten alle Pflanzen normale Blütenstände aus. Mit 0,15 μg blieb eine Pflanze vegetativ; die anderen streckten sich nur schwach und entwickelten dann sehr stark verlaubte Blütenstände mit wenigen Blütenknospen, die zudem nicht heranwuchsen, sondern vertrockneten und abfielen, worauf die Inflorescenzen vegetativ weiterwuchsen (Abb. 3). Mit 0,075 μg und ohne Gibb. blieben alle Pflanzen vegetativ.

Tabelle 1. *Wirkung der Gibb.-Menge auf die Blütenbildung im KT bei KT-Exemplaren von Br. crenatum*

Gesamtmenge Gibb. je Pflanze μg	Sichtbarwerden der Inflorescenzanlage Tage	Öffnen der ersten Blüte Tage	Zahl der Blüten je Pflanze
0	∞		0
0,075	∞		0
0,15	$>25{,}0$	∞	wenige Knospen
0,75	18,0	63,0	19,5

Die KT-Exemplare von *Br. tubiflorum* haben nicht so kurze Internodien wie die KT-Exemplare von *Br. crenatum*, sondern unterscheiden sich darin kaum von den LT-Exemplaren. Dementsprechend war auch die Streckung ihrer Internodien durch die Gibb.-Behandlung nicht so ausgeprägt wie bei *Br. crenatum*. Die Blütenbildung war aber je nach der Gibb.-Menge recht unterschiedlich und reichte von einer einfachen Enthemmung der Seitenachsen ohne Blütenanlegung über verlaubte Inflorescenzen mit wenigen Blüten bis zu normalen Blütenständen

(Tabelle 2 und Abb. 4). Bemerkenswert ist, daß auch bei einer Gabe von 92,5 μg Gibb. keine nachteilige Wirkung beobachtet werden konnte.

Abb. 3. Kurztagexemplar von *Bryophyllum crenatum*, im Kurztag mit 0,15 μg Gibberellin behandelt. Die Pflanze bildete eine stark verlaubte Inflorescenz mit wenigen Blütenknospen, die bald vertrockneten, und wuchs dann vegetativ weiter. Phot. 3,5 Monate nach Versuchsbeginn

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei blühreifen LT-Exemplaren, die schon durch das Umstellen aus dem LT in den KT einen Blühimpuls erhalten, sich eine gleichzeitige Behandlung mit Gibb. auf die Blütenbildung nicht oder nur durch eine geringe Förderung bemerkbar macht. Bei KT-Exemplaren dagegen, die ja ohne Gibb. niemals blühen, löst das Gibb. einen Blühimpuls aus, dessen Stärke innerhalb gewisser Grenzen mit steigender Gibb.-Menge zunimmt. Dadurch entstehen mehr oder weniger verlaubte oder gar vegetative Inflorescenzen als Übergänge zwischen rein vegetativen Pflanzen und solchen mit voll ausgebildeten Blütenständen. Die gleichen Übergangsformen können wie bei *Kalanchoë* (z. B. HARDER, v. WITSCH u. BODE 1942) auch bei *Bryophyllum* durch eine geeignete Dosierung der photoperiodischen Induktion hervorgerufen werden. Unterhalb einer artspezifischen Mindestmenge zeigt das Gibb. keine Wirkung. Oberhalb einer optimalen Gabe läßt sich keine weitere Steigerung der Blütenbildung erreichen, wobei auch größere Gibb.-Mengen nicht nachteilig wirken.

Tabelle 2. *Wirkung der Gibb.-Menge auf die Blütenbildung im KT bei KT-Exemplaren von Br. tubiflorum*

Gibb.-Konzentration mg/l	Zahl der Tropfen	Gesamtmenge an Gibb. je Pflanze μg	Sichtbarwerden der Inflorescenzanlage Tage	Zahl der Blüten je Pflanze
0	37	0	∞	0
100	1	2,5	51 bis ∞	0
	2	5,0	47 bis ∞	0
	5	12,5	38 bis ∞	14,0
	10	25,0	45,0	16,0
	37	92,5	44,3	43,7

Versuch 2. Blütenbildung bei LT-Exemplaren von *Br. crenatum* mit und ohne Gibb. in Abhängigkeit von der Zahl der Kurztage.

Wie in Versuch 1 gezeigt werden konnte, beeinflußt Gibb. die Blütenbildung der LT-Exemplare von *Br. crenatum* im KT nur unwesentlich,

weil die Pflanzen durch den Wechsel LT → KT schon einen nahezu maximalen Blühimpuls erhalten. Im folgenden Versuch sollte daher untersucht werden, wie das Gibb. auf die Blütenbildung von LT-Exemplaren von *Br. crenatum* wirkt, die durch abgestufte Kurztageinwirkung submaximale Blühimpulse erhalten hatten.

Die Gruppen kamen 0 bis 20 Tage lang in den Kurztag und danach zurück in den Langtag, wo sie bis zum Ende des Versuches blieben. Jeweils 5 Pflanzen jeder Gruppe erhielten vom Beginn des Versuches an

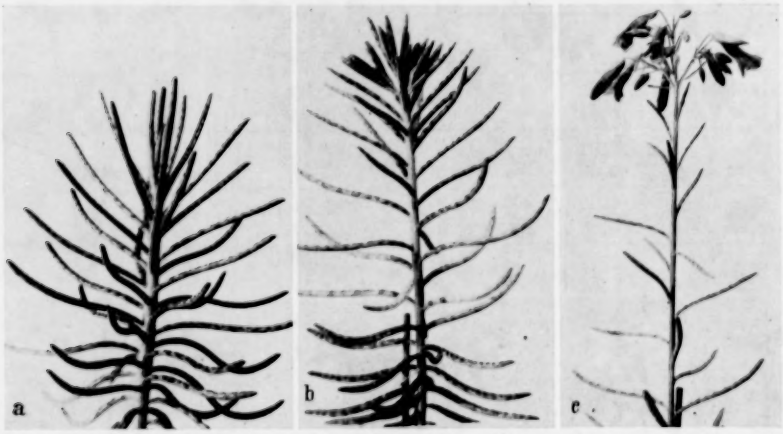

Abb. 4. Blütenbildung bei Kurztagexemplaren von *Bryophyllum tubiflorum* nach Gibberellin-Behandlung im Kurztag. Pflanze a: ohne Gibberellin, vegetativ; b: mit 2,5 µg Gibberellin, vegetative Inflorescenz; c: mit 25 µg Gibberellin, normale Inflorescenz

10 Tage lang täglich einen Tropfen Gibb.-Lösung auf den Vegetationspunkt. Insgesamt hatte dann jede dieser Pflanzen 15 µg Gibb. erhalten. Die restlichen 5 Pflanzen jeder Gruppe erhielten während der gleichen Zeit Kontrollösung.

Es entwickelten sich je nach der Zahl der Kurztage und der Gibb.-Behandlung verschieden gut ausgebildete Blütenstände. Wie in Versuch 1 traten dabei sowohl in den Gruppen mit als auch ohne Gibb. Übergänge zwischen rein vegetativen Pflanzen ohne Inflorescenzen und Pflanzen mit voll entwickelten Inflorescenzen auf.

Für die Bildung von Mittelwerten erhielten die verschiedenen Ausbildungsgrade der Inflorescenzen folgende Zahlenwerte:

Pflanzen unverändert vegetativ (Abb. 5a) . . . . . = 0
Seitenachsen unvollständig enthemmt (kürzer als die Hauptachse), keine Blüten (Abb. 5b) . . . . . = 1
Seitenachsen vollständig enthemmt (so lang wie die Hauptachse), keine Blüten (Abb. 5c) . . . . . = 2
Seitenachsen vollständig enthemmt, aber Hauptachse gehemmt (kürzer als die Seitenachsen), keine Blüten (Abb. 5d) . . . . . = 3
Wenige Blüten ausgebildet, Brakteen verlaubt (Abb. 5e) . . . . . = 4

Blütenstand normal entwickelt (Abb. 5f) . . . . . = 5
Mit zusätzlichen Blütenständen aus den Achseln der obersten Laubblätter (Abb. 5g) . . . . . = 6

Die Formen der Blütenstände, die durch Gibb.-Behandlung hervorgerufen waren, unterschieden sich kaum von den photoperiodisch ent-

Abb. 5. Blütenstandsformen bei Langtagexemplaren von *Bryophyllum crenatum* in Abhängigkeit von der Stärke der photoperiodischen Induktion. Die Pflanzen a bis g erhielten 0, 2, 3, 6, 9, 15 und 20 Kurztage

standenen, doch traten sie häufig schon nach weniger Kurztagen auf (Tabelle 3). Am ausgeprägtesten waren die Unterschiede zwischen den Pflanzen mit und ohne Gibb. in der Gruppe mit 6 Kurztagen, bei denen die Induktion durch den KT und dementsprechend die Blütenbildung ohne Gibb. noch relativ schwach war. Mit zunehmender Zahl von Kurztagen wurde die Förderung der Blütenbildung durch Gibb. immer geringer. So machte sich bei einer optimalen photoperiodischen Induktion (20 Kurztage) die Gibb.-Behandlung nur noch undeutlich in einer etwas kürzeren Zeit bis zum Öffnen der ersten Blüte bemerkbar. Ohne Gibb. wurde

Tabelle 3. *Blütenbildung bei LT-Exemplaren von Br. crenatum in Abhängigkeit von der Zahl der Kurztage mit und ohne Gibb.*

Anzahl der Kurztage	Gibb.-Behandlung	Sichtbarwerden der Inflorescenzanlage Tage	Öffnen der ersten Blüte Tage	Zahl der Blüten je Pflanze	Form des Blütenstandes
0	ohne	∞		0	0
	mit	∞		0	0
2	ohne	27 bis ∞	∞	0	1,2
	mit	20,4	∞	0	1,6
3	ohne	23,4	∞	0	2,4
	mit	20,3	∞	0	2,2
6	ohne	20,0	∞	0	3,0
	mit	18,0	60,5	18,0	4,0
9	ohne	18,8	68,4	20,2	4,0
	mit	16,2	58,6	30,4	5,4
12	ohne	18,4	64,2	22,4	4,0
	mit	17,6	59,4	28,0	5,6
15	ohne	16,8	65,0	28,2	5,6
	mit	15,2	58,8	28,2	5,8
20	ohne	17,6	63,0	25,4	5,4
	mit	17,8	58,8	28,2	5,6

maximale Blütenbildung erst durch 15 Kurztage, mit Gibb. schon durch 9 Kurztage erreicht. Bemerkenswert an diesem Ergebnis ist, daß das Gibb., von dem bisher nur eine dem LT entsprechende Wirkung bekannt war, auch die Wirkung des Kurztages „ersetzen" konnte. Allerdings war das nur in begrenztem Umfang möglich, wogegen das Gibb. den Langtag weit vollkommener ersetzen kann.

Versuch 3. Blütenbildung bei LT- und KT-Exemplaren von *Br. crenatum* mit und ohne Gibb. in Abhängigkeit von der Tageslänge.

Im Anschluß an Versuch 2 interessierte besonders die Gibb.-Wirkung im Bereich derjenigen Tageslänge, die bei den LT-Exemplaren gerade noch Blütenbildung auslöst. Hier war eine Hemmung der Blütenbildung zu erwarten, hatte das Gibb. bei *Kalanchoë* doch wie eine „Verlängerung" der Lichtzeit gewirkt (Harder und Bünsow 1958, Bünsow und v. Bredow 1958).

Dazu wurden 8 Monate alte LT- und KT-Exemplare in Gruppen zu 9 Pflanzen aufgeteilt und erhielten dann 28 Tage lang täglich 5,5 bis 13 Std Licht. In den Gruppen der LT-Exemplare erhielten jeweils 4, bei den KT-Exemplaren jeweils 7 Pflanzen 5mal (jeden 2. Tag) einen Tropfen Gibb.-Lösung (100 mg/l), also insgesamt 12,5 μg Gibb. je Pflanze. 28 Tage nach Versuchsbeginn kamen alle LT- und die mit Gibb. behandelten KT-Exemplare in den LT, die Kontrollpflanzen der KT-Exem-

Tabelle 4. *Wirkung des Gibb. auf LT- und KT-Exemplare von Br. crenatum bei photoperiodischer Induktion mit verschiedenen täglichen Lichtzeiten*

Tägliche Lichtzeit Stunden	Gibb.-Behandlung	Sichtbarwerden der Inflorescenzanlage Tage	Öffnen der ersten Blüte Tage	Zahl der Blüten je Pflanze	Form des Blütenstandes
		LT-Exemplare			
10,0	ohne	17,0	64,8	20,8	5,0
	mit	17,3	62,8	23,0	5,0
11,0	ohne	17,8	64,8	20,0	5,0
	mit	17,5	62,3	22,8	5,0
12,0	ohne	18,6	66,6	22,0	5,0
	mit	17,5	63,8	31,5	5,0
12,5	ohne	24,4	78,0	20,6	5,0
	mit	19,3	69,0	25,8	5,0
13,0	ohne	∞		0	0
	mit	32,5	∞	0[1]	2,5
		KT-Exemplare			
10,0	ohne	∞		0	0
	mit	16,4	60,5	15,3	5,0
11,0	ohne	∞		0	0
	mit	17,3	60,4	17,1	5,0
12,0	ohne	∞		0	0
	mit	22,6	67,6	14,0	5,0
12,5	ohne	∞		0[2]	0[2]
	mit	27 bis ∞	∞	0	0,5
13,0	ohne	∞		0[2]	0[2]
	mit	38 bis ∞	∞	0	0,8

[1] Wenige Knospen angelegt, nicht zu Blüten entwickelt.
[2] Nach dem Zurückstellen in den KT normale Blütenstände ausgebildet.

plare in den KT. In Tabelle 4 sind nur die Gruppen von 10 bis 13,5 Lichtstunden aufgenommen, da in den Gruppen mit 5,5 bis 10 Std Licht sich keine nennenswerten Unterschiede zeigten.

Die Blütenbildung der LT-Exemplare wurde durch Gibb. bei Lichtzeiten von 5,5 bis 12 Std nur geringfügig gefördert, denn der photoperiodische Blühimpuls war offensichtlich schon ohne Gibb. annähernd maximal. Dagegen war im Bereich der kritischen Tageslänge (12,5 und 13 Lichtstunden), bei denen der photoperiodische Blühimpuls geringer war, eine deutliche Förderung durch Gibb. festzustellen (Tabelle 4). In der Gruppe mit 13 Lichtstunden hatten alle mit Gibb. behandelten Pflanzen noch vegetative Inflorescenzen ausgebildet, und in einem Fall wurden sogar noch einige Knospen sichtbar, die sich allerdings nicht zu Blüten entwickelten. Dagegen blieben Pflanzen ohne Gibb. vegetativ.

Eine photoperiodische Behandlung mit 13 Lichtstunden hat also bei gleichzeitiger Gibb.-Gabe noch eine schwache KT-Wirkung, ist dagegen ohne Gibb. nicht mehr als KT wirksam. Das Gibb. wirkt also bei *Br. crenatum* durchaus nicht wie eine Verlängerung der Tageslänge.

Bei den KT-Exemplaren wurde durch das Gibb. Blütenbildung ausgelöst, die bei allen Lichtzeiten bis zu 11 Std unabhängig von der Tageslänge verlief. Bei 12 Std Licht war die Blütenbildung schon deutlich schwächer (Tabelle 4). Daß auch bei 12,5 und 13 Std noch einige der mit Gibb. behandelten Pflanzen vegetative Inflorescenzen ausbildeten, dürfte nicht auf eine Kurztagwirkung dieser Tageslängen zurückzuführen sein, sondern darauf, daß die Pflanzen unmittelbar nach dem Umstellen aus dem KT in den 12,5- bzw. 13 Std-Tag mit Gibb. behandelt wurden, und daß der KT noch in der neuen Tageslänge nachgewirkt hat. Daß der KT noch kurzzeitig im LT nachwirken und dann bei Gibb.-Behandlung zu Blütenbildung führen kann, zeigt Versuch 4. Von den Pflanzen ohne Gibb. wurden in den Gruppen mit 12,5 und 13 Std Licht nach dem Zurückstellen in den KT Blüten ausgebildet. Diese beiden Lichtzeiten müssen also auf die KT-Exemplare schon wie LT gewirkt haben.

Es muß hervorgehoben werden, daß sowohl die KT- als auch die LT-Exemplare, nach dem Aufenthalt im 12,5stündigen Licht in die ursprüngliche Tageslänge zurückversetzt, Blüten bildeten. Da bekanntlich nur der Wechsel LT → KT Blüten hervorruft, müssen die 12,5 Lichtstunden auf die KT-Exemplare wie LT und auf die LT-Exemplare wie KT gewirkt haben.

Das wurde an einem weiteren Versuch überprüft, in dem Gruppen mit 18 LT- bzw. KT-Exemplaren für 28 Tage Lichtzeiten von 12,5 oder 13 Std ausgesetzt wurden, worauf dann ein Teil der Gruppen in die ursprüngliche, der andere Teil in die entgegengesetzte Tageslänge übertragen wurde (Tabelle 5). Die Hälfte der Pflanzen jeder Gruppe erhielt dazu noch 3 Tage nach Versuchsbeginn (nachdem angenommen werden durfte, daß die Nachwirkung der vorangegangenen Tageslänge abgeklungen war) 0,05 cm³ einer Gibb.-Lösung von 100 mg/l injiziert.

Es zeigte sich (Tabelle 5), daß alle LT-Exemplare sowohl ohne als auch mit Gibb. durch das Umstellen in das 12,5stündige Licht einen Blühimpuls erhalten hatten. Das war nur möglich, wenn die 12,5 Lichtstunden wie KT gewirkt hatten. Aber auch die KT-Exemplare zeigten einen Blühimpuls, wenn sie aus dieser Tageslänge in den KT zurückgestellt wurden. Für sie müssen also die 12,5 Lichtstunden schon LT-Wirkung gehabt haben. Demnach wirkte also die gleiche photoperiodische Behandlung mit 12,5 täglichen Lichtstunden auf die LT-Exemplare wie KT und auf die KT-Exemplare wie LT. Außerdem wurde in diesem Versuch auch die fördernde Wirkung des Gibb. im Bereich der kritischen Tageslänge bestätigt (Tabelle 5).

Tabelle 5. *Blütenbildung von KT- und LT-Exemplaren von Br. crenatum im Bereich der kritischen Tageslänge mit und ohne Gibb.*

Anzucht vor dem Versuch	1. Teil des Versuches (Lichtstunden)	2. Teil des Versuches	Gibb.-Behandlung	Sichtbarwerden der Infloreszenzanlage (Tage)	Zahl der Blüten je Pflanze	Form des Blütenstandes
KT	12,5	KT	ohne	21 bis ∞[1]	4,7	2,8
			mit	17,7[1]	23,2	5,0
KT	12,5	LT	ohne	∞	0	0
			mit	∞	0	0
LT	12,5	LT	ohne	31,1	0	1,8
			mit	23,5	4,1	2,8
KT	13,0	KT	ohne	21,6[1]	18,9	5,0
			mit	15,6[1]	23,7	5,0
KT	13,0	LT	ohne	∞	0	0
			mit	∞	0	0
LT	13,0	LT	ohne	∞	0	0
			mit	∞	0	0

[1] Vom Zurückstellen in den KT an gerechnet.

Im eindeutigen LT mit 13 und mehr Lichtstunden blieben sowohl LT- als auch KT-Exemplare aller drei *Bryophyllum*-Arten ohne und mit Gibb. stets vegetativ, wenn das Gibb. im LT verabreicht wurde. Das ergaben ausführliche Versuche, die wegen ihres negativen Ausganges nicht näher ausgeführt sind. Nur einmal bildeten 3 von 18 KT-Exemplaren von *Br. crenatum*, die in den LT umgestellt und gleichzeitig mit Gibb. behandelt worden waren, normale Infloreszenzen aus.

Versuch 4. Blütenbildung bei KT-Exemplaren von *Br. crenatum*, die wenige Tage vor und nach dem Umstellen in den LT mit Gibb. behandelt wurden.

Um die möglichen Ursachen für das soeben geschilderte abweichende Verhalten der KT-Exemplare von *Br. crenatum* nach Gibb.-Behandlung im LT zu untersuchen, wurden mit 5 bis 13 Monate alten KT-Exemplaren dieser Art Versuche ausgeführt. Sie wurden in Gruppen zu 8 bis 10 Pflanzen aufgeteilt. Allen Pflanzen, mit Ausnahme jeweils einer Kontrollgruppe, wurden 5 μg Gibb. in die Blätter injiziert. Außerdem wurden die Gruppen vor und nach der Gibb.-Injektion aus dem KT in den LT umgestellt, und zwar so, daß entweder auf die Gibb.-Behandlung vor dem Umstellen noch ein 0 bis 6 Tage langer Aufenthalt im KT folgte, oder daß der Injektion schon ein 0 bis 8tägiger Aufenthalt im LT vorausgegangen war. Die Versuche wurden so durchgeführt, daß entweder alle Pflanzen gleichzeitig injiziert und an verschiedenen Tagen in den LT umgestellt wurden, oder daß die Umstellung am gleichen Tage, die Injektionen an verschiedenen Tagen erfolgten. Die Pflanzen blieben dann bis zum Versuchsende im LT.

Es zeigte sich, daß die Blütenbildung sowohl von der zeitlichen Lage der Gibb.-Injektion zu der Umstellung als auch vom Alter der Versuchspflanzen abhängig war. In Abb. 6 ist der Prozentsatz der Pflanzen mit Inflorescenzen in Abhängigkeit von der Zahl der *Kurz*tage *nach* der Gibb.-Injektion bzw. der *Lang*tage *davor* dargestellt. Alle Pflanzen entwickelten Inflorescenzen, wenn sie nach der Gibb.-Injektion mindestens noch 5 Kurztage erhalten hatten, blieben dagegen stets vegetativ, wenn der Gibb.-Injektion schon sechs und mehr Langtage vorangegangen waren.

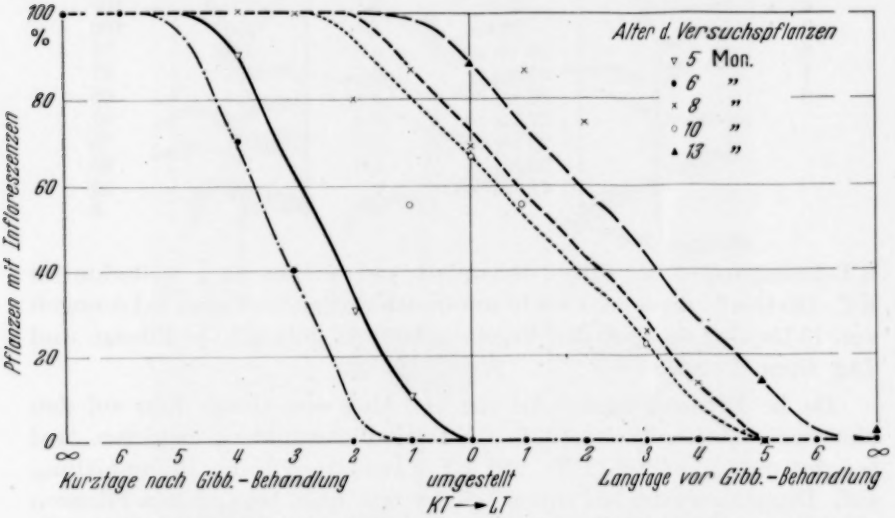

Abb. 6. Blütenbildung bei Kurztagexemplaren von *Bryophyllum crenatum* in Abhängigkeit von dem zeitlichen Verhältnis der Gibberellin-Gabe zu einer Umstellung in den Langtag, sowie vom Alter der Pflanzen. Sie wurden aus dem Kurztag in den Langtag so umgestellt, daß sie nach der Gibberellin-Injektion noch 6 bis 0 Tage im Kurztag blieben oder vor der Injektion schon 0 bis 8 Langtage erhalten hatten

Zwischen diesen beiden extremen Reaktionsweisen traten zahlreiche Übergänge auf. Je älter die Versuchspflanzen waren, um so weniger Kurztage brauchten sie nach der Gibb.-Behandlung, bzw. um so mehr Langtage davor wurden toleriert. Allerdings waren die Blütenstände dann schon häufig verlaubt und zuletzt vegetativ (Tabelle 6). Gibb. kann also auch im LT Blütenbildung auslösen, jedoch nur dann, wenn die Pflanzen mehr als ein halbes Jahr alt sind und nicht länger als 4 bis 5 Tage vor der Gibb.-Gabe noch im KT gewesen waren, so daß die KT-Wirkung noch nicht abgeklungen ist.

II. Versuche mit nichtblühreifen Pflanzen. *Versuch 5.* Blütenbildung bei KT- und LT-Exemplaren von *Br. daigremontianum* in Abhängigkeit von der Dauer und der Stärke der Gibb.-Behandlung im KT.

Sechs Monate alte, noch nicht blühreife LT- und KT-Exemplare von *Br. daigremontianum* wurden in Gruppen zu je 3 Pflanzen unter

Tabelle 6. *Blütenbildung bei 8 Monate alten KT-Exemplaren von Br. crenatum in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Gibb.-Behandlung (5 µg Gibb. je Pflanze injiziert)*

Die Pflanzen erhielten nach der Gibb.-Injektion noch 4 bis 0 Kurztage und kamen dann in den LT oder hatten vor der Gibb.-Injektion schon 0 bis 4 Langtage erhalten und blieben auch danach im LT.

Kurztage nach der Gibb.-Injektion	Langtage vor der Gibb.-Injektion	Sichtbarwerden der Inflorescenzanlagen (Tage)	Zahl der Blüten je Pflanze	Form des Blütenstandes	Pflanzen mit Inflorescenzen (%)
4		23,9	9,1	5,0	100
3		26,2	7,4	5,0	100
2		26 bis ∞	5,0	3,6	75
1		23 bis ∞	6,1	4,2	87
0	0	29 bis ∞	2,8	2,4	69
	1	27 bis ∞	3,4	2,8	87
	2	29 bis ∞	2,9	3,1	75
	3	32 bis ∞	1,0	1,0	25
	4	41 bis ∞	0	0,4	13
	5	∞	0	0	0

KT-Bedingungen mit Gibb. behandelt und blieben auch weiterhin im KT. Das Gibb. wurde an 1 bis 10 aufeinanderfolgenden Tagen in Lösungen von 10 bis 100 mg/l auf den Vegetationspunkt getropft, je Pflanze und Tag einen Tropfen.

Da die Pflanzen dieser Art erst im Alter von einem Jahr auf den photoperiodischen Wechsel LT → KT mit Blütenbildung reagieren, trat bei den unbehandelten KT- und LT-Exemplaren keine Blütenbildung auf. Dagegen wurden bei einem Teil der mit Gibb. behandelten Pflanzen eine starke Streckung der obersten Internodien und nach einigen Wochen Inflorescenzanlagen sichtbar, die sich zu verschieden ausgebildeten Blütenständen entwickelten. Dabei traten wie bei den anderen *Bryophyllum*-Arten Übergänge zwischen vegetativen Pflanzen und Pflanzen mit normalen Blütenständen auf (Abb. 7). Für die einzelnen Formen wurden folgende Zahlenwerte festgesetzt:

Pflanze unverändert vegetativ (Abb. 7a) . . . . . = 0
Seitenachsen unvollständig enthemmt (erst in späteren Versuchen beobachtet) = 1
Seitenachsen vollständig enthemmt (vegetative Inflorescenz) (Abb. 7b) . . . = 2
Inflorescenz mit wenigen Blüten, Brakteen stark verlaubt (Abb. 7c) . . . . . = 3
Brakteen nicht oder kaum verlaubt, aber Internodien der Inflorescenz sehr kurz (Abb. 7d) . . . . . = 4
Normale Inflorescenz (Abb. 7e) . . . . . = 5
Zusätzliche Inflorescenzen aus den Seitenachsen der obersten Laubblätter (Abb. 7f) . . . . . = 6

Die Ausbildungsgrade der Blütenstände entsprechen im allgemeinen den bei *Br. crenatum* beobachteten (Abb. 5). Nur die Form mit stark verkürzten Internodien (Abb. 7d) konnte bei *Br. crenatum* nie beobachtet werden.

Erst von einer Gesamtmenge von 2,5 μg Gibb. je Pflanze an wurden überhaupt Blütenanlagen und anschließend Blütenstände ausgebildet (Tabelle 7). Dabei zeigte sich, daß mit steigender Gibb.-Menge die Blütenstände sich der normalen Form näherten, doch war die Streuung

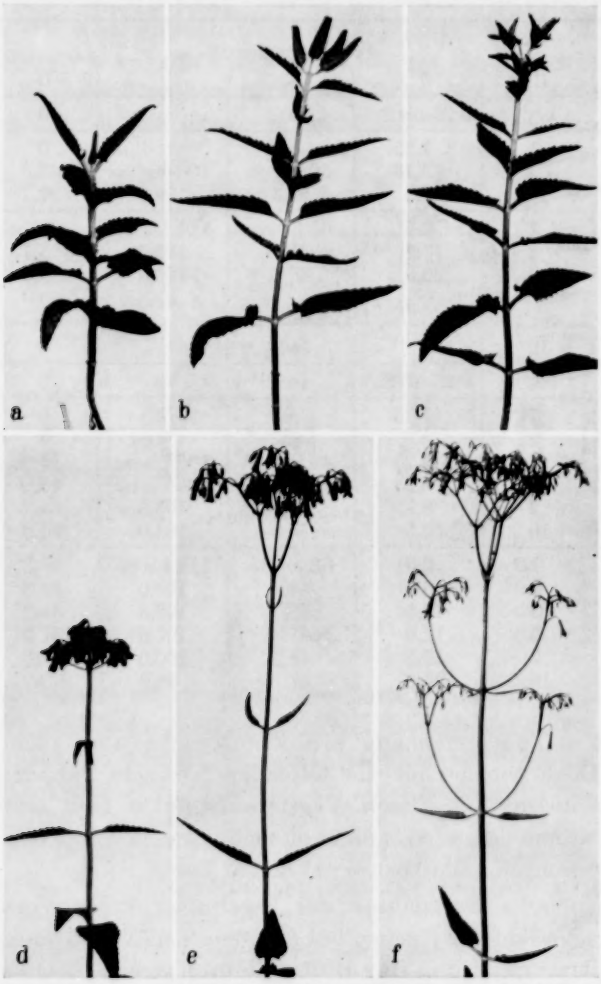

Abb. 7. Blütenstandsformen von nichtblühreifen Exemplaren von *Bryophyllum daigremontianum*, die im Kurztag mit verschiedenen Gibberellin-Mengen behandelt wurden

innerhalb der einzelnen Gruppen so groß, daß sie durch den Fehler, mit dem die Methode des Tropfens behaftet ist, nicht genügend begründet zu sein scheinen. Es wäre denkbar, daß der jeweilige Zustand des Vegetationspunktes zu Versuchsbeginn sich auch auf die Stärke des Blühimpulses auswirkt. Versuche, die diese Frage klären sollten, wiesen auf

Tabelle 7. *Blütenbildung bei nichtblühreifen KT- und LT-Exemplaren von Br. daigremontianum im KT in Abhängigkeit von der Gibb.-Behandlung*

Gibb.-Konzentration (mg/l)	Zahl der Tropfen	Gesamtmenge Gibb. je Pflanze (μg)	Sichtbarwerden der Inflorescenzanlagen (Tage)	Öffnen der ersten Blüte (Tage)	Zahl der Blüten je Pflanze	Form des Blütenstandes
			KT-Exemplare			
0	10	0	∞		0	0
10	1 bis 10	0,25 bis 2,5	∞		0	0
50	1	1,25	∞		0	0
	3	3,75	50 bis ∞	108 bis ∞	25,3	2,3
	10	12,5	38,3	98,3	104,7	5,0
100	1	2,5	67 bis ∞	111 bis ∞	2,7	1,5
	3	7,5	51,7	102,7	65,7	4,0
	10	25,0	45,7	100,0	80,3	4,3
			LT-Exemplare			
0	10	0	∞		0	0
10	1 bis 10	0,25 bis 2,5	∞		0	0
50	1	1,25	∞		0	0
	2	2,5	∞		0	0
	3	3,75	49 bis ∞	106 bis ∞	14,0	1,3
	5	6,25	52,0	85 bis ∞	43,0	3,5
	7	8,75	48,3	103,3	84,7	4,5
	10	12,5	50,0	104,0	66,3	4,2
100	1	2,5	53 bis ∞	111 bis ∞	27,3	2,3
	2	5,0	49,0	106,0	48,3	2,7
	3	7,5	52,0	105,3	58,3	4,0
	5	12,5	47,3	101,6	77,0	4,7
	7	17,5	46,3	100,0	97,0	4,7
	10	25,0	47,1	98,0	93,7	4,7

einen solchen Zusammenhang hin, konnten ihn aber nicht eindeutig erfassen. Doch wurden für die folgenden Versuche immer nur solche Exemplare ausgewählt, deren Vegetationspunkte sich annähernd im gleichen Stadium befanden, soweit dies makroskopisch an der Größe und Gestalt der jüngsten Blattpaare erkennbar war.

Die graphische Darstellung der Ergebnisse dieses Versuches entspricht dem Verlauf der Kurven bei *Br. crenatum* (Abb. 1 und 2), doch ist die Mindestmenge Gibb., die Blütenbildung gerade noch auslöst, bei *Br. daigremontianum* wesentlich höher als bei *Br. crenatum*. Erwähnt sei noch, daß Gibb. auch schon bei 3 Monate alten KT-Exemplaren von *Br. daigremontianum* im KT Blütenbildung auslöst, wogegen photoperiodische Blütenbildung durch die Behandlung LT → KT frühestens im Alter von einem Jahr möglich ist.

Weiterhin sei ein Ergänzungsversuch mitgeteilt, der zeigen sollte, ob ein Unterschied in der Blütenbildung bei nichtblühreifen LT- und KT-

Exemplaren besteht, wenn beide gleichmäßig im KT mit Gibb. behandelt werden (die Ergebnisse des Hauptversuches gaben wegen der geringen Zahl von Pflanzen je Gruppe hierauf keine Antwort). Dazu wurden 4 Monate alten LT- und KT-Exemplaren 1 bis 5mal jeden 2. Tag 0,05 cm^3 Gibb.-Lösung (50 mg/l) in eines der beiden obersten voll ausgewachsenen Blätter injiziert. Der Versuch wurde im KT ausgeführt.

In den Gruppen mit nur einer Injektion war die Blütenbildung der LT-Exemplare gegenüber den KT-Exemplaren deutlich gefördert (Tabelle 8). Bei den übrigen Gruppen, bei denen die Blütenbildung schon

Tabelle 8. *Blütenbildung von nichtblühreifen KT- und LT-Exemplaren von Br. daigremontianum nach Gibb.-Behandlung im KT*

Zahl der Pflanzen je Gruppe	Zahl der Injektionen	Gesamtmenge Gibb. je Pflanze (µg)	Sichtbarwerden der Inflorescenzanlage (Tage)	Zahl der Blüten je Pflanze	Form des Blütenstandes	Zahl der seitenständigen Inflorescenzen
KT-Exemplare						
5	0	0	∞	0	0	0
10	1	2,5	36,0	58,9	4,8	0
5	2	5,0	30,4	76,8	6,0	2,4
5	3	7,5	32,6	86,0	6,0	2,8
5	5	12,5	31,2	65,0	6,0	2,0
LT-Exemplare						
5	0	0	∞	0	0	0
10	1	2,5	31,2	93,1	6,0	2,3
5	2	5,0	29,6	96,8	6,0	2,8
5	3	7,5	28,4	98,8	6,0	3,4
5	5	12,5	29,0	104,4	6,0	2,0

fast maximal zu sein schien, traten die Unterschiede nicht so deutlich hervor. Wenn auch bei nichtblühreifen LT-Exemplaren die LT-Wirkung allein nicht dazu ausreicht, um bei nachfolgender KT-Behandlung Blütenbildung auszulösen, so fördert sie bei schwacher Gibb.-Gabe die Blütenbildung doch merklich.

Versuch 6. Blütenbildung bei LT- und KT-Exemplaren von *Br. daigremontianum* im KT nach vorangegangener Gibb.-Behandlung im LT.

Während in den bisherigen Versuchen KT und Gibb. gleichzeitig zur Wirkung kamen oder die Gibb.-Behandlung nach der KT-Behandlung erfolgt war, sollte mit diesem Versuch geprüft werden, ob das Gibb. blütenbildend wirksam blieb, auch wenn es mehrere Monate vor dem KT verabreicht wurde. Dazu wurden Gruppen zu je 10 nichtblühreifen LT- und KT-Exemplaren von *Br. daigremontianum* (5 Monate alt) im LT aufgestellt und erhielten hier 0 bis 10 Tage hintereinander täglich einen Tropfen Gibb.-Lösung 10 mg/l auf den Vegetationspunkt. Alle Pflanzen blieben danach 4 Monate im LT. Dann wurden 5 Pflanzen aus jeder Gruppe in den KT umgestellt. Die restlichen blieben im LT.

Keine der Pflanzen, die bis zum Ende des Versuches im LT blieben, bildete Blüten aus. Im vegetativen Wachstum zeigten sich allerdings erhebliche Unterschiede, sowohl zwischen Gruppen mit unterschiedlicher Gibb.-Behandlung als auch zwischen den entsprechenden Gruppen der LT- und KT-Exemplare.

Die nach 4 Monaten in den KT umgestellten Pflanzen zeigten hingegen nach einigen Wochen z. T. Inflorescenzanlagen, die sich zu verschieden ausgebildeten Blütenständen entwickelten (Tabelle 9). Bei den

Tabelle 9. *Blütenbildung von nichtblühreifen LT- und KT-Exemplaren von Br. daigremontianum im KT, die 4 Monate vor dem Umstellen in den KT im LT verschieden oft mit Gibb. behandelt worden waren*

Zahl der Tropfen	Gesamtmenge Gibb. je Pflanze (μg)	Sichtbarwerden der Inflorescenzanlage (Tage)	Zahl der Blüten je Pflanze	Form des Blütenstandes
		LT-Exemplare		
0	0	∞	0	0
1	2,5	∞	0	0
3	7,5	32 bis ∞	78,8	2,8
5	12,5	28,4	147,8	4,0
7	17,5	38,2	124,8	4,0
10	25,0	29,0	127,6	4,0
		KT-Exemplare		
0	0	48 bis ∞	31,0	1,6
1	2,5	43 bis ∞	54,2	1,6
10	25,0	30,0	224,0	4,0

LT-Exemplaren wurden erst ab 7,5 μg Gibb. je Pflanze Blütenanlagen sichtbar; über 12,5 μg Gibb. ließ sich keine Steigerung in der Blütenbildung feststellen. Bei den KT-Exemplaren, die also insgesamt dem Wechsel KT → LT → KT ausgesetzt waren, kam es in allen Gruppen zu Blütenbildung. Allerdings entwickelte in den Gruppen ohne oder mit nur geringer Gibb.-Gabe nur ein Teil der Pflanzen Inflorescenzanlagen. Das durch das Gibb. bewirkte Eintreten der Blühreife war also über 4 Monate erhalten geblieben.

Besonders auffällig war, daß bei den KT-Exemplaren auch in der Gruppe ohne Gibb. Blütenstände ausgebildet wurden, da es sich doch um nichtblühreife Pflanzen handelte und die gleich alten LT-Exemplare ohne Gibb. keine Blütenstände ausbildeten. Daß es sich dabei um kein zufälliges Ergebnis gehandelt hat, zeigte ein Versuch gleicher Art, in dem sieben nichtblühreife KT-Exemplare von *Br. daigremontianum* (9 Monate alt) 2 Monate lang in den LT gestellt wurden und dann zusammen mit fünf gleich alten LT-Exemplaren, die also bis zu diesem Zeitpunkt ununterbrochen im LT aufgewachsen waren, zurück in den KT kamen.

Die KT-Exemplare, die also insgesamt dem Wechsel KT → LT → KT ausgesetzt waren, entwickelten alle normale Inflorescenzen, während die LT-Exemplare, die nur den Wechsel LT → KT mitgemacht hatten, ausnahmslos vegetativ blieben. Demnach wird *Br. daigremontianum* durch den Wechsel KT → LT ebenso wie durch Gibb. früher blühreif als im ständigen LT.

B. Versuche an Pflanzen mit reduzierter Blattzahl

Während in den bisher beschriebenen Versuchen die ganzen Pflanzen dem KT oder LT ausgesetzt worden waren, wurden bei den folgenden Versuchen nur einzelne Blätter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen ausgesetzt und zum Teil auch noch mit Gibb. behandelt; die restlichen Blätter wurden zu Beginn des Versuches entfernt. Dadurch konnte im Gegensatz zu den bisherigen Versuchen das gleichzeitige Zusammenwirken von LT, KT und Gibb. beobachtet werden.

Versuch 7. Gleichzeitiges Zusammenwirken von KT, LT und Gibb. an KT- und LT-Exemplaren von *Br. daigremontianum*.

An blühreifen LT- und KT-Exemplaren von *Br. daigremontianum* (24 Monate alt) wurden alle Blätter bis auf 2 oder 4 entfernt, so daß entweder nur die beiden gegenständigen Blätter eines Knotens oder außerdem noch das senkrecht darunterstehende Blattpaar (die Blätter des übernächsten Knotens) stehenblieben. Die beiden Blätter eines Knotens wurden stets gleich behandelt, die Blätter der verschiedenen Knoten aber unterschiedlich, indem sie KT, LT oder Gibb. in verschiedener Kombination gemäß Tabelle 10 erhielten. Es wurden nur die am wichtigsten erscheinenden Kombinationen an meist 5 Pflanzen durchgeführt. Das Gibb. wurde in die Blätter injiziert, und zwar je Blatt 0,1 cm³ einer Lösung von 100 mg/l einmal zu Beginn des Versuches. Die KT-Blätter wurden 10 Wochen lang von 16 bis 7 Uhr durch lichtdichte Stoffsäckchen verdunkelt.

Bei den LT-Exemplaren bildeten alle Pflanzen der Gruppen $\frac{K}{L}$, $\frac{K}{—}$ und $\frac{K+G}{L}$, bei denen das obere Blattpaar Kurztag (K) oder Kurztag mit Gibb. (K + G) und das untere Blattpaar Langtag (L) erhielt oder auch abgeschnitten war (—), Blütenstände aus. Alle Pflanzen der Gruppen $\frac{L}{K}$ und $\frac{L+G}{K}$ blieben unverändert vegetativ. Bei den KT-Exemplaren bildete nur die Gruppe $\frac{K+G}{L}$ Blüten, während alle Pflanzen der Gruppen $\frac{K}{L}$, $\frac{L}{K}$ und $\frac{L+G}{K}$ vegetativ blieben (Tabelle 10).

Es zeigte sich also, daß der Vegetationspunkt stets nur dann einen Blühimpuls erhielt, wenn das *obere* Blattpaar dem Wechsel LT → KT (bei

LT-Exemplaren, deren oberes Blattpaar KT erhielt) ausgesetzt gewesen war oder wenn es KT und gleichzeitig Gibb. erhalten hatte, gleichgültig, ob die Blätter vorher im KT oder im LT gewesen waren. Keine Blütenbildung wurde beobachtet, wenn das obere Blattpaar dauerndem LT, dauerndem KT, dem Wechsel KT → LT (bei KT-Exemplaren, deren oberes Blattpaar LT erhielt) oder LT + Gibb. ausgesetzt war. Ein Einfluß des *unteren* Blattpaares ließ sich in diesem Versuch nicht nachweisen.

Tabelle 10. *Blütenbildung bei blühreifen LT- und KT-Exemplaren von Br. daigremontianum mit nur zwei Blattpaaren, die KT, LT und Gibb. in verschiedener Kombination erhielten*

Behandlung der Blätter	Sichtbarwerden der Infloreszenzanlagen (Tage)	Zahl der Blüten je Pflanze	Form des Blütenstandes
LT-Exemplare			
L / K	∞	0	0
K / L	47,0	70,6	4,2
K / —	56,5	67,8	4,25
L + G / K	∞	0	0
K + G / L	32,0	68,5	5,0
KT-Exemplare			
K / L	∞	0	0
L / K	∞	0	0
K + G / L	52,0	92,5	5,75
L + G / K	∞	0	0

Entsprechende Ergebnisse erbrachten Versuche mit nichtblühreifen LT- und KT-Exemplaren von *Br. daigremontianum*, die nur zwei am gleichen Knoten gegenüberstehende Blätter behielten, welche mit LT, KT oder Gibb. in verschiedener Kombination behandelt wurden (Tabelle 11).

Qualitativ bestand zwischen KT- und LT-Exemplaren kein Unterschied. Alle Pflanzen, bei denen mindestens ein Blatt KT und außerdem noch mindestens ein Blatt Gibb. bekommen hatte, entwickelten normale Infloreszenzen, gleichgültig, ob das Gibb. auf das KT- oder auf das LT-Blatt gegeben worden war. Allerdings war im ersten Fall die Blütenbildung in geringem Umfang gefördert. Ebenso zeigte sich eine geringfügige Förderung der Blütenbildung bei den LT-Exemplaren gegenüber den entsprechenden Gruppen der KT-Exemplare.

Versuch 8. Gleichzeitiges Zusammenwirken von LT, KT und Gibb. an blühreifen LT-Exemplaren von *Br. crenatum*.

Bei *Br. crenatum* konnten alle in Frage kommenden Kombinationen mit einer größeren Zahl von Pflanzen je Gruppe nachgeprüft werden. Dabei zeigten sich einige Besonderheiten, die bei *Br. daigremontianum* nicht beobachtet worden waren.

An den blühreifen LT-Exemplaren (5,5 Monate alt), die auf Gruppen mit meist 10 Pflanzen verteilt worden waren, wurden zwei senkrecht übereinanderstehende Blätter, teilweise auch nur das untere der beiden Blätter, stehengelassen. Die Blätter erhielten LT, KT und Gibb. gemäß Tabelle 12. Das Gibb. wurde an zehn aufeinanderfolgenden Tagen auf das entsprechende Blatt getropft, und zwar täglich 1 Tropfen von 100 mg/l. Die KT-Blätter wurden bei den meisten Pflanzen bis zum Sichtbarwerden der Inflorescenzanlagen verdunkelt. Bei den Gruppen 10, 11, 15 und 16 (Tabelle 12) wurden die entsprechenden Blätter insgesamt 4 Wochen im KT gehalten, um auch einen schwachen Blühimpuls möglichst zu erfassen.

Tabelle 11. *Blütenbildung von nichtblühreifen LT- und KT-Exemplaren von Br. daigremontianum, bei denen zwei am gleichen Knoten gegenüberstehende Blätter LT, KT und Gibb. in verschiedener Kombination erhielten*

\+ Blütenstände ausgebildet, — Pflanzen vegetativ geblieben.

LT-Exemplare		Linkes Blatt LT → KT	LT	abgeschnitten
rechtes Blatt LT ↑	LT	—	—	—
	KT	—		—
	LT + Gibb.	+	—	—
	KT + Gibb.	+	+	+
KT-Exemplare		**Linkes Blatt KT →** KT	LT	abgeschnitten
rechtes Blatt KT ↑	LT	—	—	—
	KT	—		—
	LT + Gibb.	+	—	—
	KT + Gibb.	+	+	+

Nach der Art der Blütenbildung kann man die Gruppen in 3 Abteilungen zusammenfassen (Tabelle 12): a) die Gruppen 1 bis 9 mit schwach verlaubten bis normalen Blütenständen, b) die Gruppen 10 bis 12 mit vegetativen Inflorescenzen und c) die Gruppen 13 bis 16 ohne Inflorescenzen.

Den Gruppen 1 bis 9 war gemeinsam, daß während des Versuches mindestens das obere Blatt KT bekommen hatte. Da es sich um LT-Exemplare handelte, hatte also das obere Blatt insgesamt LT → KT erhalten. Bei allen Pflanzen war daher mit Blütenbildung zu rechnen, falls nicht das Gibb. oder das untere LT-Blatt einen hemmenden Einfluß ausüben würde. Der Vergleich der Gruppen 1 bis 5 mit den entsprechenden Gruppen 6 bis 9 zeigt, daß durch das Gibb. die Blütenbildung keineswegs gehemmt, sondern gefördert wurde, was den Ergebnissen der vorangegangenen Versuche entspricht.

Zwischen den Gruppen 1 bis 5, in denen jeweils das obere Blatt Gibb. und KT erhalten hatte, ließen sich keine Unterschiede feststellen. Der Blühimpuls scheint hier maximal gewesen zu sein, so daß sich ein Einfluß des unteren Blattes nicht bemerkbar machen konnte. Ein Vergleich von Gruppe 4 mit Gruppe 6 zeigt, daß die Blütenbildung stärker gefördert wurde, wenn das Gibb. auf das (obere) KT-Blatt gegeben wurde, als wenn es auf das (untere) LT-Blatt kam.

Tabelle 12. *Blütenbildung von blühreifen LT-Exemplaren von Br. crenatum, bei denen zwei senkrecht übereinanderstehende Blätter KT, LT und Gibb. in verschiedener Kombination erhielten*

Gruppe Nr.	Behandlung der Blätter	Sichtbarwerden der Infloreszenzanlagen (Tage)	Öffnen der ersten Blüte (Tage)	Zahl der Blüten je Pflanze	Form des Blütenstandes
1	K+G / K+G	15,0	71,3	8,6	4,8
2	K+G / K	14,5	68,5	11,4	4,7
3	K+G / L+G	15,0	69,0	10,8	5,0
4	K+G / L	15,1	67,1	11,6	4,9
5	K+G / —	15,4	78,0	6,4	4,2
6	K / L+G	19,0	77,1	10,4	4,4
7	K / K	16,9	80,9	7,9	4,5
8	K / L	20,1	90,2	7,7	4,3
9	K / —	22,0	98,4	6,0	4,2
10	L+G / K+G	21,8	∞	0	1,6
11	L+G / K	22,9	∞	0	1,8
12	L+G / L	23,4	∞	0	2,0
13	L / K+G	∞		0	0
14	L / K	∞		0	0
15	L / L+G	∞		0	0
16	L / L	∞		0	0

Vergleicht man die Gruppen 7 bis 9 miteinander, die alle kein Gibb. erhielten und deren Blütenbildung nicht maximal war, weil die photoperiodische Behandlung eines einzigen Blattes dazu nicht ausreicht, so läßt sich ein deutlicher Einfluß des unteren Blattes feststellen.

In Gruppe 7, in der beide Blätter KT erhielten, war der Blühimpuls stärker als in Gruppe 8, in der das unterste der beiden Blätter LT bekam. Daß es sich dabei nicht um einen hemmenden Einfluß des unteren Blattes in Gruppe 8, sondern um eine Förderung der Blütenbildung durch das zweite KT-Blatt in Gruppe 7 handelte, wird klar, wenn man Gruppe 8 mit Gruppe 9 vergleicht. Obwohl das untere LT-Blatt fehlte, war hier der Blühimpuls sogar noch etwas schwächer als in Gruppe 8, in der das untere Blatt LT erhalten hatte.

In den Gruppen 13 bis 16, also immer dann, wenn das obere Blatt im LT ohne Gibb. gehalten worden war, blieben die Pflanzen unverändert vegetativ, gleichgültig, ob das untere Blatt KT, LT, KT + Gibb. oder LT + Gibb. erhalten hatte. Zwei weitere Versuche der gleichen Art bestätigten dieses Ergebnis. Daß es sich dabei um eine direkte Wirkung eines im LT-Blatt gebildeten Hemmstoffes gehandelt haben kann, erscheint recht unwahrscheinlich.

Völlig unerwartet war die Reaktion der Gruppen 10 bis 12, in denen das obere Blatt LT und außerdem Gibb. erhalten hatte. Alle Pflanzen dieser 3 Gruppen bildeten vegetative Inflorescenzen mit den gleichen Formen, wie sie in Versuch 2 bei schwacher Induktion beobachtet wurden (Abb. 5b und c), gleichgültig, ob das untere Blatt LT, KT oder KT + Gibb. bekommen hatte. Die Reaktion dieser Gruppen war deshalb so überraschend, weil Gibb. an vollbeblätterten LT-Exemplaren von *Br. crenatum* im LT niemals Inflorescenz- oder Blütenbildung ausgelöst hatte.

Versuche mit reduzierter Blattzahl an KT-Exemplaren von *Br. crenatum* führten zu keinem Ergebnis, da die Blätter der KT-Exemplare kleiner sind als die Blätter der LT-Exemplare und die photoperiodische Behandlung eines einzelnen Blattes auch über einen längeren Zeitraum hinweg in keinem Fall zur Anlegung von Blütenständen führte.

Versuch 9. Ausbildung von vegetativen Inflorescenzen bei LT-Exemplaren von *Br. crenatum* nach starker Verminderung der Blattzahl und gleichzeitiger Gibb.-Behandlung im LT.

Anlaß zu diesem Versuch war das auffällige Verhalten der Gruppen 10 bis 12 in Versuch 8.

An 6 Monate alten LT-Exemplaren von *Br. crenatum* wurden entweder alle Blätter bis auf eines entfernt, oder es wurde auch noch die Spreite des einen Blattes bis auf den Blattstiel abgeschnitten. Zwei Kontrollgruppen wurden nicht entblättert. Jeder Pflanze wurden 0,05 cm^3

einer Lösung von 0 bis 200 mg/l Gibb. in das Blatt bzw. den stehengebliebenen Blattstiel injiziert (Tabelle 13). Die Pflanzen blieben dauernd im LT.

In den Kontrollgruppen 1 und 2 blieben sowohl die mit Kontrollösung als auch die mit Gibb. behandelten Pflanzen unverändert vegetativ. In den Gruppen 3 bis 9 mit nur einem oder gar keinem Blatt bildeten die mit Gibb. behandelten Pflanzen teilweise vegetative Inflorescenzen aus, während alle Pflanzen ohne Gibb. unverändert vegetativ blieben. Blüten wurden nirgends gebildet. Es war also wie in Versuch 8 nur dann zur

Tabelle 13. *Bildung von vegetativen Inflorescenzen bei LT-Exemplaren von Br. crenatum im LT bei starker Reduktion der Blattzahl und gleichzeitiger Gibb.-Behandlung*

Je Gruppe 10 Pflanzen.

Gruppe Nr.	Zahl der stehengebliebenen Blätter	Gibb.-Konzentration mg/l	Gesamtmenge Gibb. je Pflanze µg	Zahl der Pflanzen mit veget. Inflorescenz	Form des Blütenstandes
1	14	0	0	0	0
2	14	200	10,0	0	0
3	1	0	0	0	0
4	1	0,5	0,025	3	0,3
5	1	5,0	0,25	9	1,0
6	1	50	2,5	10	1,6
7	1	200	10,0	7	1,4
8	0	0	0	0	0
9	0	200	10	6	1,0

Ausbildung vegetativer Inflorescenzen gekommen, wenn bei den LT-Exemplaren von *Br. crenatum* die Blattzahl stark reduziert war und die Pflanzen gleichzeitig mit Gibb. behandelt wurden. Bei vollbeblätterten LT-Exemplaren konnte durch Gibb. im LT niemals die Ausbildung von vegetativen Inflorescenzen hervorgerufen werden.

Besprechung der Ergebnisse

Die vorstehend mitgeteilten Versuche haben die Befunde von BÜNSOW u. HARDER (1956a), daß Gibb. die zur photoperiodischen Blütenbildung der Lang-Kurztagpflanzen unerläßliche Langtagbehandlung ersetzen kann, für alle 3 Arten bestätigen können. Weiterhin ergaben die Versuche, daß Blütenbildung nicht nur dann stattfindet, wenn KT und Gibb. gleichzeitig einwirken, sondern auch dann, wenn die Gibb.-Behandlung mehrere Monate vor dem KT (Versuch 6) bis einige Tage nach Beendigung des Kurztages (Versuch 4) erfolgt. Dagegen führt bei einer ausschließlich photoperiodischen Behandlung nur die Folge LT → KT zur Blütenbildung.

Die Wirkung des Gibberellins und des Langtages auf den Prozeß der Blütenanlegung und -weiterentwicklung stimmen weitgehend überein. Bei geeigneter Dosierung kann man mit beiden auch die gleichen Übergangsformen der Blütenstände (vegetative und verlaubte) erhalten. Eine geringfügige Abweichung zeigt sich lediglich in den um wenige Prozent längeren Internodien der Blütenstände, in den etwas spitzeren Blütenknospen und in den etwas längeren und schmäleren Petalen nach einer Gibb.-Behandlung. Eine ähnliche Wirkung des Gibb. auf die Form der Blütenstände haben Harder u. Bünsow (1958) bei *Kalanchoë blossfeldiana* gefunden.

In einer Hinsicht geht das Gibb. in seiner Wirkung über eine LT-Behandlung hinaus: es setzt das für die Blütenbildung notwendige Mindestalter bei *Br. daigremontianum* erheblich herab (Versuch 5 und 6). Wenn allerdings die fehlende Blühreife nur darauf beruhen sollte, daß der LT im ersten Jahr noch nicht genügend wirksam wird, um mit einer nachfolgenden KT-Behandlung Blütenbildung auszulösen, dann würde auch in diesem Fall das Gibb. nur die noch fehlende LT-Wirkung ersetzen. Dafür spricht auch der vegetative Habitus der LT-Exemplare, denn deren Internodien sind im ersten Jahr nur 30 bis 40 mm lang (gegenüber einer Internodienlänge von 20 bis 30 mm bei KT-Exemplaren). Sie nehmen erst im zweiten Jahr den typischen LT-Habitus mit 70 bis 80 mm langen Internodien an. Nach einer Gibb.-Behandlung im LT erhält *Br. daigremontianum* aber auch schon im ersten Jahr den typischen LT-Habitus. Daß der LT in gewissem Umfang auch schon im ersten Jahr zur Wirkung kommt, zeigt sich daran, daß 4 Monate alte LT-Exemplare bei schwacher Gibb.-Gabe im KT besser blühen als gleich alte KT-Exemplare (Versuch 5). Voll wirksam wird der LT schon im ersten Jahr auch dann, wenn eine KT-Behandlung vorausgegangen ist (Versuch 6), denn bei einer rein photoperiodischen Behandlung KT → LT → KT bildet auch diese Art schon im ersten Jahre Blüten.

Den KT konnte das Gibb. in bezug auf die Blütenbildung niemals ersetzen, denn LT und Gibb. allein führten in keinem Fall zu einem Blühimpuls. Allerdings konnte Gibb. die Wirkung des Kurztages merklich unterstützen, wenn die KT-Behandlung entweder hinsichtlich der Zahl der Kurztage (Versuch 2) oder hinsichtlich der Tageslänge (Versuch 3) oder in bezug auf die Zahl der behandelten Blätter (Versuch 8) nicht optimal war. In allen diesen Fällen bewirkte trotz ausreichender LT-Behandlung eine zusätzliche Gibb.-Gabe eine Förderung der Blütenbildung. Waren dagegen sowohl LT- als auch KT-Wirkung optimal, so machte sich eine zusätzliche Gibb.-Behandlung nicht oder kaum bemerkbar (Versuch 1, 2 und 3).

Sowohl bei LT-Pflanzen wie auch bei KT-Pflanzen wird die Blütenbildung durch die entgegengesetzte Tageslänge gehemmt. In Überein-

stimmung mit der LT-Wirkung hemmt auch das Gibb. bei der KT-Pflanze *Kalanchoë blossfeldiana* die Blütenbildung (HARDER u. BÜNSOW 1958). Bei den untersuchten *Bryophyllum*-Arten konnte weder für den LT noch für den KT eine Hemmwirkung auf die Blütenbildung nachgewiesen werden, und ebenso konnte für Gibb., auch bei größeren Gaben, niemals ein negativer Einfluß festgestellt werden. Die Gibb.-Wirkung erreichte mit zunehmender Menge nach Überschreiten einer unteren Schwelle relativ schnell ein Maximum, das durch eine weitere Steigerung der Gibb.-Gabe unverändert blieb (Abb. 1 und 2).

Im Gegensatz zu den Versuchen mit intakten Pflanzen, bei denen LT und KT immer nur nacheinander zur Wirkung kamen, konnte an Pflanzen mit verminderter Blattzahl das gleichzeitige Zusammenwirken von LT, KT und Gibb. an derselben Pflanze beobachtet werden. Entsprechende Versuche mit *Kalanchoë* wurden von HARDER, WESTPHAL u. BEHRENS (1949) und von HARDER u. BÜNSOW (1958) ausgeführt. Bei *Kalanchoë* kann durch ein KT-Blatt Blütenbildung ausgelöst werden. Allerdings hat die KT-Behandlung um so weniger Erfolg, je mehr LT-Blätter, die den Blühimpuls schwächen, sich zwischen KT-Blatt und Vegetationspunkt befinden. Ebenso wird der vom KT-Blatt ausgehende Blühimpuls durch Gibb. stark geschwächt, gleichgültig, ob das Gibb. in das KT-Blatt oder in ein Blatt darüber oder darunter injiziert wurde.

Die Ergebnisse der entsprechenden Versuche mit LT-Exemplaren von *Br. daigremontianum* und *Br. crenatum* sind in Tabelle 14 zusammengefaßt. Wie auf Grund der Versuche mit vollbeblätterten Pflanzen zu erwarten war, wurden bei den Kombinationen 1, 2, 5, 6, 9 und 10 normale Blütenstände ausgebildet, denn alle an den Pflanzen verbliebenen Blätter erhielten LT → KT. Eine zusätzliche Gibb.-Behandlung wirkte sich meist in einer geringen Förderung der Blütenbildung aus, weil die photoperiodische Behandlung von höchstens 2 Blättern je Pflanze nicht optimal war. Ebenso entsprach den Erwartungen, daß bei den Kombinationen 11, 12, 15, 16, 19 und 20 mit ein oder zwei LT-Blättern je Pflanze und teilweiser Gibb.-Behandlung keine Blütenanlagen gebildet wurden.

Nicht vorauszusehen und daher besonders interessant war die Reaktion der Kombinationen 3, 4, 7, 8, 13, 14, 17 und 18, bei denen neben einem LT → KT-Blatt noch ein LT-Blatt an der Pflanze stehenblieb. Bei dieser Anordnung kam es immer dann zu Blütenbildung, wenn das LT-Blatt unter dem LT → KT-Blatt stand. Der umgekehrte Fall, also LT-Blatt über dem LT → KT-Blatt, führte nicht zu Blütenbildung, auch wenn eines der beiden Blätter noch zusätzlich Gibb. erhielt.

Aus Versuch 7 und 8 geht außerdem hervor, daß auch dann Blütenbildung eintrat, wenn ein Blatt der Pflanze KT und dieses oder ein

anderes Blatt gleichzeitig Gibb. erhielt. Auch in diesem Fall unterdrückte ein LT-Blatt zwischen KT-Blatt und Vegetationspunkt den Blühimpuls, während ein LT-Blatt unter dem KT-Blatt oder am gleichen Knoten auf die Blütenbildung ohne Einfluß blieb.

In erster Linie ist für die Blütenbildung nur das obere von zwei senkrecht übereinanderstehenden Blättern maßgeblich. Das untere Blatt macht sich nicht oder nur unspezifisch fördernd bemerkbar. Weiterhin ist erforderlich, daß das obere Blatt die gesamte notwendige Behandlung entweder den Wechsel LT → KT oder KT + Gibb., erhält, denn niemals wurden Infloreszenzanlagen beobachtet, wenn das untere Blatt KT und das obere Blatt LT bekam oder umgekehrt (Tabelle 10). Eine scheinbare Ausnahme bilden die Fälle, in denen ein Blatt KT und das gegenüber stehende LT-Blatt Gibb. erhielt; hier kam es zu Blütenbildung, obwohl KT- und Gibb.-Behandlung an verschiedenen Blättern vorgenommen wurden (Tabelle 11). Wie aber Versuche, von denen in einer anderen Arbeit berichtet werden soll, gezeigt haben, breitet sich das Gibb. bald über die ganze Pflanze aus. So dürften auch dann, wenn KT und Gibb. nicht am gleichen Blatt verabreicht wurden, doch beide im gleichen Blatt, nämlich im KT-Blatt wirksam geworden sein. Dafür, daß das Gibb. erst in das KT-Blatt gelangen mußte, um mit dem KT zusammen den Blühimpuls auszulösen, spricht auch der Befund, daß in den Fällen, in denen das Gibb. direkt auf das KT-Blatt gegeben wurde, die Infloreszenzanlagen früher sichtbar wurden als in den Fällen, in denen das Gibb. auf ein anderes Blatt getropft wurde.

Tabelle 14. *Blütenbildung von blühreifen LT-Exemplaren von Br. daigremontianum und Br. crenatum, bei denen zwei senkrecht untereinanderstehende Blätter LT, KT und Gibb. in verschiedenen Kombinationen erhielten*

\+ Normale Blütenbildung, ± bei *Br. crenatum* vegetative Infloreszenzen, bei *Br. daigremontianum* keine Blütenbildung; — Pflanzen unverändert vegetativ.

		Oberes Blatt LT →			
		KT	KT + Gibb.	LT	LT + Gibb.
unteres Blatt LT ↓	KT	1 +	2 +	3 −	4 ±
	KT + Gibb.	5 +	6 +	7 −	8 ±
	abgeschnitten	9 +	10 +	11 −	12 ±
	LT	13 +	14 +	15 −	16 ±
	LT + Gibb.	17 +	18 +	19 −	20 ±

Völlig unerwartet war die Reaktion der LT-Exemplare von *Br. crenatum*, deren oberes Blatt LT + Gibb. erhielt (Versuch 8), denn sie bildeten im Gegensatz zu allen Versuchen mit vollbeblätterten Pflanzen vegetative Infloreszenzen aus.

Es ist durchaus möglich, daß die Blütenbildung, mindestens bei *Bryophyllum*, in 2 Schritten vor sich geht. 1. Herabsetzen der apikalen Dominanz, d.h. eine Hemmung des Hauptachsenwachstums und Enthemmung der Seitenachsen, die dann zur typischen Verzweigung des Blütenstandes führt, und 2. die Ausbildung von Blütenanlagen mit nachfolgender Entwicklung von Blüten. Bei sehr schwacher photoperiodischer Einwirkung wurden ja auch rein vegetative Inflorescenzen entwickelt. Für Stufe 1 wäre dann gar kein KT, sondern nur das Vorhandensein eines Gibb. oder eines gibb.-ähnlichen Stoffes erforderlich, und nur zur Stufe 2, also zur Ausbildung von Blüten, wäre KT unerläßlich. Daß es aber trotz der Anwesenheit von Gibb. bei LT-Exemplaren von *Br. crenatum* nur dann zur Blütenbildung kommt, wenn gleichzeitig die Blattzahl an der Pflanze stark reduziert wird, könnte an einer Veränderung des Auxinspiegels liegen, die auch durch den Wechsel LT→KT eintreten und die Enthemmung der Seitenachsen bedingen dürfte.

Abschließend bleibt noch zu untersuchen, welche Aussagen sich auf Grund der Versuchsergebnisse über die noch unbekannten inneren Vorgänge bei der Blütenbildung und die Rolle des Gibb. hierbei für die drei untersuchten *Br.*-Arten machen lassen. Weder LT noch KT haben eine hemmende Wirkung auf die Anlegung oder Entwicklung der Blüten. Vielmehr ergaben die Versuche, daß beide unerläßlich sind, damit es zu einer photoperiodischen Induktion kommt. Es kann aber, wie sich gezeigt hat, die LT-Behandlung stets durch Gibb. ersetzt werden. LT und Gibb. entsprechen sich in ihrer Wirkungsweise weitgehend. Bedenkt man weiter, daß in den letzten Jahren gibberellinartig wirkende Stoffe in höheren Pflanzen gefunden werden konnten, die zudem auch bei *Bryophyllum* wie Gibberellin auf die Blütenbildung wirken (BÜNSOW, PENNER u. HARDER 1958), so erscheint es durchaus möglich, daß die LT-Wirkung auf der Bildung oder Aktivierung eines Gibberellins oder eines ähnlichen Stoffes beruht. Ob im KT ebenfalls ein Wirkstoff gebildet wird, läßt sich nicht sagen, da bisher nichts gefunden werden konnte, was einen dem KT entsprechenden Einfluß auf die Blütenbildung hat. Allerdings macht der Befund, daß der KT auch noch einige Tage unter LT-Bedingungen wirksam bleibt (Versuch 4), das Vorhandensein eines speziellen KT-Stoffes wahrscheinlich. Möglicherweise wird dieser Wirkstoff während der Dunkelperiode — eventuell sogar aus dem LT-Stoff — gebildet und unter dem Einfluß des Lichtes wieder unwirksam, so daß er aus diesem Grunde bisher noch nicht aufgefunden werden konnte.

Auch RESENDE (1952, 1953 und 1956b) nimmt an, daß es sich bei der Blütenbildung von Lang-Kurztagpflanzen um das Zusammenwirken zweier Stoffe (Auxin und Antiauxin) handelt, wobei das Auxin im LT, das Antiauxin im KT gebildet werden soll. Allerdings fand die Annahme von RESENDE, daß es nur zur Ausbildung von Blüten kommt, wenn beide

Stoffe in einem ganz bestimmten Verhältnis in der Pflanze vorliegen und daß jeder der beiden Stoffe für sich in höherer Konzentration die Blütenbildung hemmt, in den vorliegenden Versuchen keine Bestätigung.

Nach Brian (1958) ist für die Blütenbildung von LT- und KT-Pflanzen der gleiche gibberellinähnliche Stoff verantwortlich. Nur verlangen LT-Pflanzen eine hohe, KT-Pflanzen eine niedrige Wirkstoffkonzentration. Doch erklärt diese Hypothese nicht, warum Lang-Kurztagpflanzen normalerweise nur auf den Wechsel LT → KT reagieren und warum auch das gleichzeitige Zusammenwirken von KT und Gibb. blütenbildend wirksam ist.

Nach unseren eigenen Versuchen ist es am wahrscheinlichsten, daß bei *Bryophyllum*, und nach Sachs (1959) bei *Cestrum nocturnum* u. a., für die photoperiodische Blühinduktion 2 Prinzipien gleichzeitig und am gleichen Ort wirksam sein müssen. Drücken wir es der Einfachheit halber so aus: ein KT-Stoff und ein LT-Stoff (Gibberellin) müssen gleichzeitig und im selben Blatt in einer bestimmten Mindestmenge vorhanden sein, damit Blütenbildung eintreten kann. Wie aber kommt die eigenartige Tatsache zustande, daß nur die Folge LT→ KT blütenbildend wirksam wird und nicht die umgekehrte Folge KT→ LT ?

In Versuch 4 bildete *Br. crenatum* nach der Behandlung KT→ LT + Gibb. nur dann Blüten, wenn zwischen dem Umstellen in den LT und der Gibb.-Gabe nicht mehr als 5 Langtage lagen. Danach hatte der vorangegangene KT seine Wirkung verloren und der Blühimpuls blieb aus. Diese wenigen Langtage reichen aber nicht aus, um LT-Stoff in ausreichender Menge zu bilden, denn KT-Exemplare von *Br. crenatum* benötigen mindestens 20 Langtage, die von *Br. daigremontianum* sogar mindestens 60 Langtage, um im anschließenden Kurztag Blüten anlegen zu können. Blütenbildung kann daher nur dann eintreten, wenn von außen LT-Stoff (Gibberellin) so rechtzeitig hinzugegeben wird, daß der KT-Stoff seine erforderliche Mindestmenge noch nicht unterschritten hat. Der LT-Stoff wird nicht nur langsam aufgebaut, sondern auch langsam abgebaut und behält daher seine Wirksamkeit auch bedeutend länger als der KT-Stoff. Dagegen wird der KT-Stoff nicht nur schnell abgebaut, sondern auch schneller aufgebaut als der LT-Stoff. LT-Exemplare von *Br. crenatum* benötigen für die Blütenbildung nur 9 bis 12 Tage, die von *Br. daigremontianum* etwa 15 Kurztage. Kommen daher die Pflanzen aus dem Langtag in den Kurztag, so ist — wenn im KT genügend KT-Stoff gebildet worden ist — auch noch genügend LT-Stoff vorhanden.

Wenn in Versuch 3 festgestellt werden konnte, daß die gleiche Tageslänge entweder wie LT oder wie KT wirken kann, so stimmt dies mit der Beobachtung von Resende (1956a) überein, daß *Br. daigremontianum* bei ständigem Aufenthalt in einer Tageslänge von 12,5 bis 12,75 Std nach längerer Zeit Blüten bildet, und daß die Pflanzen in dieser Tageslänge

einen Habitus annehmen, der zwischen dem typischen KT- und dem typischen LT-Habitus liegt. Offensichtlich werden im Bereich der kritischen Tageslänge LT- und KT-Stoff gleichzeitig gebildet, jedoch in so geringer Menge, daß Blütenbildung nur nach längerem Aufenthalt in dieser Tageslänge möglich ist.

Zusammenfassung

Die Lang-Kurztagpflanzen *Bryophyllum daigremontianum*, *Br. crenatum* und *Br. tubiflorum* wurden unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen mit Gibberellin (Gibb.) behandelt. Dabei konnte das Gibb. den zur photoperiodischen Blütenbildung unerläßlichen Langtag (LT) in allen Fällen ersetzen. Die durch Gibb. induzierten Blütenstände unterschieden sich nur unwesentlich von den rein photoperiodisch induzierten, und auch der äußerlich sichtbare Verlauf der Blütenbildung war in beiden Fällen gleich. Bei unzureichender Gibb.-Gabe wurden wie bei unzureichender photoperiodischer Behandlung nur vegetative und verlaubte Inflorescenzen — als Übergänge zwischen vegetativen Pflanzen und Pflanzen mit normalen Blütenständen — gebildet.

Der für die Blütenbildung ebenfalls unerläßliche Kurztag (KT) konnte in keinem Fall durch Gibb. vollkommen ersetzt werden; jedoch wurde unter gewissen Umständen eine unzureichende KT-Behandlung durch zusätzliches Gibb. in ihrer Wirkung verstärkt.

Hatten die Versuchspflanzen schon durch die photoperiodische Behandlung einen maximalen Blühimpuls erhalten, so machte sich eine zusätzliche Gibb.-Gabe nicht oder kaum bemerkbar. Auch bei großen Gibb.-Mengen wurde niemals ein negativer Einfluß auf die Blütenbildung beobachtet. Ebenso wurde für die Langtag- und Kurztagwirkung niemals eine Hemmwirkung in bezug auf die Blütenbildung gefunden.

Br. daigremontianum wird erst im 2. Jahr nach der Aussaat der Brutknospen blühreif; durch Gibb. konnte aber die Blühreife schon bei 3 Monate alten Pflanzen erreicht werden. In diesem Fall ging die Wirkung des Gibb. über die des Langtages hinaus. Das gleiche konnte auch rein photoperiodisch durch den Wechsel Kurztag → Langtag bewirkt werden.

Bei *Br. crenatum* konnte sogar im Langtag durch Gibb. Blütenbildung ausgelöst werden, jedoch nur dann, wenn die Pflanzen erst vor fünf oder weniger Tagen aus dem Kurztag gekommen waren. Diese Umstellung allein hatte niemals blühauslösend gewirkt.

Versuche an Pflanzen mit reduzierter Blattzahl, bei denen einzelne Blätter der gleichen Pflanze LT, KT und Gibb. erhielten, ergaben, daß für die Blütenbildung immer nur das letzte Blatt vor dem Vegetationspunkt verantwortlich war, und zwar mußte dieses Blatt entweder den Wechsel Langtag → Kurztag oder Kurztag und Gibb. erhalten, damit

Blüten ausgebildet wurden. Erhielten Langtagexemplare von *Br. crenatum* bei starker Reduktion der Blattzahl gleichzeitig Gibb., so bildeten sie auch ohne Kurztagbehandlung vegetative Inflorescenzen (ohne jede Blütenanlagen) aus.

Schlüsse über den inneren Ablauf der Blütenbildung, die sich aus den Versuchen an den 3 *Bryophyllum*-Arten ziehen lassen, werden in der Besprechung erörtert.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. R. Harder, danke ich für das Thema und für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit, Herrn Dr. R. Bünsow für wertvolle Anregungen, Hinweise und Kritik.

Literatur

Brian, P. W.: Role of gibberellin-like hormones in regulation of plant growth and flowering. Nature (Lond.) **181**, 1122—1123 (1958).

Bünsow, R., u. K. v. Bredow: Wirkung von Licht und Gibberellin auf die Samenkeimung der Kurztagpflanze *Kalanchoë blossfeldiana*. Biol. Zbl. **77**, 132—141 (1958).

Bünsow, R., u. R. Harder: Blütenbildung von *Bryophyllum* durch Gibberellin. Naturwissenschaften **43**, 479—480 (1956a).

Bünsow, R., u. R. Harder: Blütenbildung von *Lampsana* durch Gibberellin. Naturwissenschaften **43**, 527 (1956b).

Bünsow, R., u. R. Harder: Blütenbildung von *Adonis* und *Rudbeckia* durch Gibberellin. Naturwissenschaften **44**, 453—454 (1957).

Bünsow, R., J. Penner u. R. Harder: Blütenbildung bei *Bryophyllum* durch Extrakt aus Bohnensamen. Naturwissenschaften **45**, 46—47 (1958).

Dostal, R.: K otazce květních hormonci. Sborn. Českol. Akad. Zem. **22** (**2**), 241—247 (1950a).

Dostal, R.: Morfogenetické pokusy s *Bryophyllum verticillatum*. Acta Acad. Sci. Nat. Moravosiles. **22**, 57—98 (1950b).

Harder, R., u. R. Bünsow: Einfluß des Gibberellins auf die Blütenbildung bei *Kalanchoë blossfeldiana*. Naturwissenschaften **43**, 544 (1956).

Harder, R., u. R. Bünsow: Zusammenwirken von Gibberellin mit photoperiodisch bedingten blühfördernden und blühhemmenden Vorgängen bei *Kalanchoë blossfeldiana*. Naturwissenschaften **44**, 454 (1957).

Harder, R., u. R. Bünsow: Über die Wirkung von Gibberellin auf Entwicklung und Blütenbildung der Kurztagpflanze *Kalanchoë blossfeldiana*. Planta (Berl.) **51**, 201—222 (1958).

Harder, R., M. Westphal u. G. Behrens: Hemmwirkung der Inflorescenzbildung durch Langtag bei der Kurztagpflanze *Kalanchoë blossfeldiana*. Planta (Berl.) **36**, 424—438 (1949).

Harder, R., H. v. Witsch u. O. Bode: Über die Erzeugung einseitig und allseitig verlaubter Infloreszenzen durch photoperiodische Behandlung von Laubblättern. Jb. wiss. Bot. **90**, 546—591 (1942).

Lang, A.: Induction of flower formation in biennial *Hyoscyamus* by treatment with gibberellin. Naturwissenschaften **43**, 284—285 (1956a).

Lang, A.: Gibberellin and flower formation. Naturwissenschaften **43**, 544 (1956b).

Lang, A.: The effect of gibberellin upon flower formation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **43**, 709—717 (1957).

LONA, F.: Osservatione orientative circa l'effetto dell'acido gibberellico sullo sviluppo riproduttivo di alcune longhidiurne e brevidiurne. Ateneo parmense **27**, 867 (1956).

PÄTAU, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (eine neue T-Tafel). Biol. Zbl. **63**, 152—168 (1943).

RESENDE, F.: Acerca do impulso floral em plantas de dia „longo-curto" e plantas de dia „curto-longo". Rev. Fac. Ci. Lissb. **3**, 447 (1953).

RESENDE, F.: Acerca do comortamento de *Bryophyllum daigremontianum* (PDLC) vivendo permanente em condisioes fotoperiodicas de 14 h luz e 12 h de escuridao. Rev. Biol. **1**, 28—40 (1956a).

RESENDE, F.: *Kalanchoë rotundifolia* (PDLC) florescendo em permanente DC pela accao de auxina (IAA). Rev. Biol. **1**, 63—67 (1956b).

RESENDE, F., and M. VIANA: Some effects of synthetic auxins and antiauxins on the floral state. Bol. Soc. port. Cien. natur. **4**, 74—78 (1952).

SACHS, R. M.: Dual day length requirements for floral initiation. In: Photoperiodism and related phenomena, p. 315—320. Washington 1959.

STODOLA, F. H.: Source Book on Gibberellin 1928—1957. Peoria 1958.

STOWE, B. B., and T. YAMAKI: Gibberellins: stimulants of plant growth. Science **129**, 807—816 (1959).

WITTWER, S. H., and M. J. BUKOVAC: Gibberellin effects on temperature and photoperiodic requirements for flowering of some plants. Science **126**, 30—31 (1957a).

WITTWER, S. H., and M. J. BUKOVAC: Some effects of gibberellin on flowering and fruit setting. Plant Physiol. **32**, 39—41 (1957b).

Dr. J. PENNER,
Kiel-Wik, Bremerskamp 55

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigung bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Vorläufige Mitteilungen werden nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellungen der Tatbestände ist zulässig.

II. Formelle Anforderungen

Originalarbeiten sollen nicht umfangreicher als zwei Druckbogen (à 16 Druckseiten) sein; Kurze Mitteilungen dürfen den Umfang von vier Druckseiten nicht überschreiten.

Das Manuskript muß leicht leserlich und einseitig geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzureichen, ebenso die Legenden. Die Arbeiten müssen knapp und sprachlich klar geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. *Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen* (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) *herzustellen.*

Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

Für die Rechtschreibung ist die „wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt.

Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch nach freier Wahl des Autors abgefaßt sein kann. Inhaltsverzeichnisse können nicht abgedruckt werden.

Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text, oder wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen und angefordert werden kann.

Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige zu beschränken. Knappe Abbildungsunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Unzulässig ist die doppelte Darstellung in Tabelle *und* Kurve. Für Halbtonbilder (Photos, Mikrophotos, Halbtonzeichnungen) sind reproduktionsfähige, d. h. scharfe, gut durchgezeichnete und tonwertreiche Vorlagen (Hochglanzabzüge) einzureichen. Die Beschriftung der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise sind auf einem über die Vorlage geklebten Deckblatt einzureichen. Für schematische Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzungen reproduziert werden sollen, sind saubere, klare Skizzen abzuliefern, die vom Verlag umgezeichnet werden.

Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen (jeweils mit Anfangsbuchstaben des Vornamens) *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und weniger wichtigen Teilen ist für Kleindruck vorzumerken. Autorennamen sollen (für KAPITÄLCHEN-Druck) doppelt, lateinische Namen der Objekte (für *Kursiv*-Druck) geschlängelt unterstrichen werden. In Kursiv-Druck können auch andere Worte des Textes gesetzt werden, die der Autor besonders hervorzuheben wünscht.

Das Zerlegen der Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel nicht die gleichen sind.

Danksagungen können in Form von Fußnoten zum Beitragstitel oder als kurzer Petitabschnitt am Schluß der Arbeit gebracht werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

In der Korrektur sollen nur Druckfehler verbessert, jedoch keine inhaltlichen oder stilistischen Änderungen vorgenommen werden. 10% der Satzkosten übersteigende Korrekturkosten müssen den Autoren in Rechnung gestellt werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Handbuch der Pflanzenphysiologie
Encyclopedia of Plant Physiology

Herausgegeben von W. RUHLAND, Unterdeufstetten

In Gemeinschaft mit

E. ASHBY, Belfast · J. BONNER, Pasadena · M. GEIGER-HUBER, Basel
W. O. JAMES, London · A. LANG, Pasadena · D. MÜLLER, Kopenhagen
M. G. STÅLFELT, Stockholm

In 18 Bänden. Jeder Band ist einzeln käuflich

Soeben erschien:

5. Band

Die CO_2-Assimilation — The assimilation of carbon dioxide

Redigiert von ANDRÉ PIRSON, Göttingen
Mit 640 Abbildungen. LVI, 1882 Seiten Gr.-8°. 1960.
(52 Beiträge in deutscher, 18 in englischer Sprache)
In zwei Teile gebunden, die nur zusammen abgegeben werden
Ganzleinen DM 530,—

Bei Verpflichtung zur Abnahme des Gesamtwerkes Subskriptionspreis
Ganzleinen DM 424,—

INHALTSÜBERSICHT

Erster Teil: Einführung · Das Kohlendioxyd und die Kohlensäure: Dissoziation der Kohlensäure, Gleichgewichte und Puffersysteme. Vorkommen von Kohlendioxyd und Kohlensäure in der Natur. Uptake of CO_2 by the plant · Die Photosynthese der grünen Pflanzen: Historical introduction. Methoden der Photosynthesemessung. Der physiologische Apparat der Photosynthese (Farbstoffe, Plastidenaufbau). Efficiency of photosynthesis. Die Analyse des Photosynthesevorgangs. Zweiter Teil: Allgemeinere Physiologie und Ökologie der Photosynthese · The photosynthetic bacteria · Chemosynthesis · Namenverzeichnis — Author Index · Sachverzeichnis (Deutsch-Englisch), Subject Index (English-German).

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A G., Würzburg
Printed in Germany